

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

Medicina del Lavoro e Igiene Industriale

XXIV ciclo (2009-2011)

TESI DI DOTTORATO DI RICERCA

**MONITORAGGIO DELLA CONTAMINAZIONE DA
FARMACI ANTINEOPLASTICI
NELLE STRUTTURE OSPEDALIERE**



COORDINATORE:

Chiar.mo : Prof. Giovanni Costa

TUTOR:

Prof. Claudio Colosio

DOTTORANDO:

Dr Lorenzo Fugnoli

A.A. 2012/2013

Riassunto

La preparazione e la somministrazione dei farmaci antineoplastici espone potenzialmente gli operatori ospedalieri addetti (tecnici di farmacia, infermieri, personale medico) a sostanze chimiche tossiche, e in alcuni casi, cancerogene. Questo problema è avvertito da circa trent'anni in ambito internazionale. In Italia, da dieci anni il 'Documento di linee guida per la sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antitumorali in ambiente sanitario' (G.U. n°236 del 7 ottobre 1999) specifica le procedure e i protocolli di prevenzione dell'esposizione e di tutela della salute dei lavoratori coinvolti.

L'attività di monitoraggio ambientale di CA nelle strutture ospedaliere, effettuata negli ultimi 20 anni dal LaTMA (Laboratorio di Tossicologia e Metabolomica Analitica) della Medicina del Lavoro dell'Ospedale San Paolo di Milano, si colloca nel delicato quanto attuale contesto della prevenzione del rischio negli ambienti di lavoro.

Nel panorama legislativo che suggerisce l'adozione delle più efficaci misure preventive, tecniche e procedurali, da attuarsi per limitare la diffusione della contaminazione negli ambienti di lavoro e, di conseguenza, la possibile esposizione del personale addetto a CA, risulta opportuno dare una connotazione più precisa al generico principio ALARA (As Low As Reasonably Achievable). Tale principio è normalmente adottato per ovviare alla mancanza di veri e propri limiti per i Farmaci Antitumorali maneggiati dal personale addetto, ma si ritiene necessario quantificare un livello di contaminazione che possa definirsi accettabile come risultato della migliore applicazione delle misure preventive.

Il laboratorio LaTMA ha intrapreso da tempo un'attività di verifica dell'applicazione e dell'efficacia delle linee guida messe in atto da diverse strutture ospedaliere specializzate attraverso il monitoraggio ambientale della contaminazione da farmaci chemioterapici antitumorali. In particolare, attraverso la misura della contaminazione da CA sulle superfici di lavoro dei locali di preparazione e di somministrazione dei farmaci viene valutata l'entità della possibile esposizione degli operatori. A tal proposito è stato messo a punto un protocollo standardizzato di verifica che comprende la strategia di campionamento, i metodi analitici e i criteri per l'interpretazione dei risultati delle indagini.

Per la misura della contaminazione da farmaci chemioterapici antitumorali sulle superfici di lavoro sono stati sviluppati metodi cromatografici per la rivelazione di alcuni dei CA di più largo impiego, procedure originali del laboratorio, messe a punto sperimentalmente, validate e pubblicate, o in corso di pubblicazione, nella letteratura scientifica internazionale.

Il presente lavoro si prefigge lo scopo di dare una puntualizzazione dei criteri e delle tecniche di campionamento che fissano gli standard qualitativi del monitoraggio ambientale e l'introduzione di un modello interpretativo dei dati sperimentali che consenta una valutazione il più possibile oggettiva e indipendente dell'efficienza delle strutture adibite alla preparazione ed alla somministrazione di CA in termini di livello di contaminazione e suo contenimento.

Abstract

The use of antineoplastic drugs (ADs) by hospital personnel involved in the preparation and administration of chemotherapeutic drugs (pharmacy technicians, nurses, medical staff) may result in the undue occupational exposure to chemicals with toxic and carcinogenic effects. This problem is experienced by about thirty years' in the international arena. In Italy, from ten years the 'Document of guidelines for the safety and health of workers exposed to antineoplastic in the healthcare environment' (GU n ° 236 of October 7, 1999) specifies the procedures and protocols for the prevention of exposure, and protect the health of workers involved in this particular area of hospital activity.

Environmental monitoring, carried out by the LaTMA (Laboratory of Analytical Toxicology and Metabolomics, Occupational Medicine San Paolo Hospital in Milan) during the last 20 years, is a fundamental tool in the exposure assessment and prevention at the workplace.

In spite of the adoption of the most effective preventive measures, a more precise connotation to the general ALARA (As Low As Reasonably Achievable) principle should be provided. Due to the lack of official safe limits for ADs, it is necessary to define the level of contamination that can be considered to be acceptable as a result of the implementation of these measures.

LaTMA's monitoring activity has verified for some time the implementation and effectiveness of the guidelines put in place by different specialized hospitals by monitoring environmental contamination. In particular, the extent of the potential exposure to ADs has been evaluated through the measurement of contamination on working surfaces in preparation and administration areas. A standardized protocol, including the sampling strategy, analytical methods and interpretation criteria of the results, was developed.

Original laboratory procedures, validated and published or to be published in the international scientific literature, have been developed for the detection of some of the most widely used ADs, using HPLC/UV.

This paper aims to give a clarification of the criteria and sampling techniques that set the quality standard of environmental monitoring and the introduction of an interpretative model of the experimental data enabling an assessment as objective as possible and independent of the efficiency of facilities for the preparation and administration of CA in terms of level of contamination and its containment.

INDICE

INDICE

PREMESSA

1. INTRODUZIONE

- 1.1. I tumori. Carico della malattia in Italia
- 1.2. Impiego dei farmaci antitumorali
- 1.3. Stima del numero di operatori addetti alla manipolazione e somministrazione di CA
- 1.4. Chemioterapici Antiblastici: meccanismi di azione e tossicità
- 1.5. Informazioni generali sui farmaci antitumorali per i quali è stato chiesto il monitoraggio
 - 1.5.1. Ciclofosfamide
 - 1.5.2. Ifosfamide
 - 1.5.3. Dacarbazina
 - 1.5.4. Metotrexate
 - 1.5.5. 5-Fluoruracile
 - 1.5.6. Citarabina
 - 1.5.7. Gemcitabina
 - 1.5.8. Vinorelbina
 - 1.5.9. Epirubicina
- 1.6. ALTRI FARMACI ANTITUMORALI PER I QUALI SONO STATE SVOLTE INDAGINI DI MONITORAGGIO NEI LUOGHI DI LAVORO OSPEDALIERI
 - 1.6.1. Doxorubicina
 - 1.6.2. Composti del Platino

2. ESPOSIZIONE PROFESSIONALE A CHEMIOTERAPICI ANTIBLASTICI

- 2.1. Tossicocinetica e tossicodinamica
- 2.2. Possibili effetti avversi nel personale addetto
 - 2.2.1. Effetti acuti
 - 2.2.2. Effetti cancerogeni
 - 2.2.3. Effetti teratogeni
 - 2.2.4. Effetti biologici precoci
- 2.3. Relazione dose-effetto, dose-risposta

3. VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE PROFESSIONALE A CA

- 3.1. Monitoraggio biologico
- 3.2. Monitoraggio ambientale

4. ASPETTI NORMATIVI

- 4.1. Linee Guida in ambito internazionale
- 4.2. La normativa in Italia
 - 4.2.1. Centralizzazione dei locali e delle attività
 - 4.2.2. Caratterizzazione dei luoghi di lavoro

- 4.2.3. Sistemi di aerazione
- 4.2.4. Dispositivi di sicurezza per il contenimento del rischio

5. SCOPO DEL LAVORO

6. MATERIALI E METODI

APPROCCIO METODOLOGICO: STRATEGIE DI MONITORAGGIO

- 6.1. Campionamento
 - 6.1.1. Attività preliminari
 - 6.1.2. Scelta dei traccianti
 - 6.1.3. Tecniche di campionamento
- 6.2. Analisi: valutazione della contaminazione
 - 6.2.1. Strumenti per il calcolo della contaminazione di superfici
 - 6.2.2. Criteri guida per la valutazione della contaminazione
 - 6.2.3. Nuovi strumenti per il calcolo della contaminazione
 - 6.2.4. Confronto tra campagne di misura e uso dei *benchmark*
- 6.3. Caratteristiche delle strutture ospedaliere investigate
- 6.4. Raccolta campioni
- 6.5. Metodi analitici impiegati e analisi effettuate.
- 6.6. Dati provenienti da altre campagne di misura LaTMA
- 6.7. Grandezze utilizzate per la descrizione della contaminazione.

7. RISULTATI

CAMPAGNE DI MONITORAGGIO AMBIENTALE 2009-2011

- 7.1. Farmaci impiegati come traccianti della contaminazione struttura A
- 7.2. Descrizione della contaminazione nell'Unità Farmaci Antiblastici – struttura A
 - 7.2.1. Risultati del monitoraggio della contaminazione da CA nell'Unità Farmaci Antiblastici Struttura A
- 7.3. Descrizione della contaminazione nel locale somministrazione – struttura A
 - 7.3.1. Risultati del monitoraggio della contaminazione da CA nel Locale Somministrazione Struttura A
- 7.4. Descrizione della contaminazione in quattro locali preparazione farmaci – struttura A
 - 7.4.1. Zona preparazione Medicina Oncologica
 - 7.4.2. Unità di Trapianto del Midollo Osseo Ematologia
 - 7.4.3. Unità Day Hospital
 - 7.4.4. Medicina Generale
- 7.5. Descrizione della contaminazione nell'Unità Farmaci Antiblastici – struttura B
 - 7.5.1. Unità Farmaci Antiblastici
 - 7.5.2. Locali dedicati alla somministrazione delle terapie
 - 7.5.3. Farmaci impiegati come traccianti della contaminazione
 - 7.5.4. Risultati del monitoraggio ambientale Struttura B
 - 7.5.4.1. Valori di contaminazione delle superfici nei locali somministrazione
 - 7.5.4.2. Valori di contaminazione delle superfici nell' Unità Farmaci Antiblastici

8. INDICI DI CONTAMINAZIONE ASSOLUTI E SINOTTICI A CONFRONTO

9. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

BIBLIOGRAFIA

A. ALLEGATO TECNICO

- A.1. Determinazione analitica dei glucoside analoghi (5- Fluorouracile, Gemcitabina, Citarabina)
 - A.1.1. Materiali e reagenti
 - A.1.2. Procedimento analitico
 - A.1.3. Condizioni cromatografiche
 - A.1.4. Dati sperimentali
- A.2. Determinazione analitica di Epirubicina
 - A.2.1. Materiali e reagenti
 - A.2.2. Procedimento analitico
 - A.2.3. Condizioni cromatografiche
 - A.2.4. Dati sperimentali
- A.3. Determinazione analitica di Metotrexato
 - A.3.1. Materiali e reagenti
 - A.3.2. Procedimento analitico
 - A.3.3. Condizioni cromatografiche
 - A.3.4. Dati sperimentali
- A.4. Determinazione analitica di Dacarbazina (DAC)
 - A.4.1. Materiali e reagenti
 - A.4.2. Procedimento analitico
 - A.4.3. Condizioni cromatografiche
 - A.4.4. Dati sperimentali

APPENDICE

PREMESSA

Le normali attività lavorative ospedaliere possono comportare l'esposizione degli addetti a numerosi agenti chimici (anestetici da inalazione, reagenti di laboratorio e di diagnostica, classi di farmaci, disinfettanti, ecc.), classificati come pericolosi dal punto di vista tossicologico e in condizione di costituire una potenziale fonte di rischio per la salute dei lavoratori.

L'impiego di chemioterapici antitumorali (CA) per il trattamento dei pazienti oncologici rappresenta una condizione non facilmente evitabile nell'attività sanitaria, soprattutto in ambito ospedaliero. Per le modalità di azione attraverso le quali si sviluppa l'effetto terapeutico, i farmaci antitumorali sono necessariamente agenti citotossici potenti e presentano nei pazienti importanti effetti collaterali anche a carico di organi e sistemi diversi dalla massa tumorale da eliminare. Tali effetti rappresentano i fenomeni avversi, nei confronti dell'insorgenza dei quali, deve essere definita una dose limitante nel trattamento della patologia.

L'impiego di tali farmaci nel trattamento dei pazienti oncologici comporta varie fasi di lavoro da parte del personale ospedaliero: preparazione delle dosi terapeutiche, somministrazione ai pazienti, assistenza ai pazienti in corso di trattamento e smaltimento dei reflui biologici prodotti dai pazienti trattati e dei rifiuti potenzialmente contaminati con tracce dei farmaci somministrati, nei quali sono presenti anche frazioni non irrilevanti delle dosi spesso elevate dei farmaci antitumorali somministrati.

La pericolosità delle operazioni lavorative che richiedono l'uso o il contatto di tali farmaci per operatori sanitari dalle diverse professionalità (in ordine di verosimile livello di esposizione: infermieri preparatori, infermieri somministratori, infermieri e personale di assistenza ai pazienti, personale addetto alle pulizie, medici e infermieri che praticano trattamenti con modalità invasive), risiede principalmente nella cancerogenicità di alcuni tra i farmaci antitumorali più attivi ancora ampiamente utilizzati.

Per verificare che questa attività lavorativa, irrinunciabile per la cura dei pazienti oncologici, non arrechi danno agli operatori, sono da tempo stati messi a punto interventi specifici di prevenzione, protezione e sorveglianza sanitaria. In particolare, la legge italiana prevede in modo esplicito la protezione di tutti i lavoratori dagli effetti indebiti dell'esposizione ad agenti chimici pericolosi ("Decreto Legislativo 9 Aprile 2008, n. 81 Testo Unico sulla Salute e Sicurezza sul Lavoro, pubblicato sul Supplemento Ordinario n. 108/L alla Gazzetta Ufficiale n. 101 del 30 Aprile 2008).

I farmaci rappresentano, tra le sostanze chimiche, una classe peculiare in quanto risultano in alcuni casi, indispensabili nel trattamento dei pazienti ma, pericolosi per i lavoratori che li devono necessariamente utilizzare. Se e quando si verificano tali circostanze deve essere necessariamente ridotta al minimo possibile l'eventualità che gli stessi ne vengano esposti in misura pericolosa per la loro salute. Questa preoccupazione è emersa già da decenni, dapprima in particolare nei lavoratori chimici addetti alla sintesi, alla purificazione e alla preparazione in forma farmaceutica di sostanze quali gli antibiotici beta-lattamici (rischio di sensibilizzazione allergica che ne preclude, nel soggetto colpito, non solamente l'ulteriore esposizione professionale ma anche l'utilizzo, al bisogno, nel suo trattamento terapeutico); i farmaci ormono-simili quali i corticosteroidi anti-infiammatori di sintesi e i contraccettivi steroidei (comparsa di fenomeni anatomico-fisiologici a carico degli organi e degli apparati che

ne sono il naturale bersaglio); da ultimi anche i farmaci antineoplastici. Un ordine del tutto simile di considerazioni emerge anche in riferimento all'esposizione professionale di altre categorie di lavoratori ad altre classi di *designer chemicals*, quali i prodotti fitosanitari, sia in fase di produzione e formulazione che di impiego in campo.

Per l'esposizione dei lavoratori ad agenti chimici in grado di procurare l'insorgenza di tumore nell'uomo tra cui, farmaci antitumorali di grande efficienza e di ampio uso, esiste una specifica disciplina.

Tra le misure di protezione e prevenzione che sono state riconosciute come tappe successive del processo finalizzato alla riduzione del rischio da esposizione indebita ai farmaci antitumorali durante l'impiego terapeutico, si annoverano:

- la riorganizzazione globale del processo di prescrizione-preparazione-trattamento volta a garantire contemporaneamente, (a) la personalizzazione dei trattamenti e la minimizzazione (annullamento) degli errori di attribuzione delle terapie ai singoli pazienti; (b) la corretta formulazione dei trattamenti individuali, sotto il profilo dell'esattezza, della sicurezza (mantenimento della sterilità delle preparazioni) e dell'assenza di rischio per il personale; (c) l'umanizzazione della relazione con il paziente, che deve essere trattato in riservatezza e confort da parte del personale infermieristico; la consapevolezza che, operando secondo i protocolli messi a punto e utilizzando i materiali specifici previsti, è possibile, non solo eseguire i trattamenti, ma anche affrontare le eventuali emergenze in assenza di rischio di impropria esposizione.
- la sorveglianza sanitaria, intesa come il complesso delle garanzie fornite al lavoratore professionalmente esposto a CA, conseguite sia attraverso il protocollo degli accertamenti diagnostici e di natura clinica, sia mediante l'asseverazione dell'esposizione e la valutazione o stima del potenziale rischio per la salute.

Entrambi questi aspetti sono stati oggetto di specifiche disposizioni, contenute in due principali provvedimenti: in ordine cronologico

- il Documento di linee guida per la sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antiblastici in ambiente sanitario' (G.U. n°236 del 7 ottobre 1999)

e a livello regionale

- il Provvedimento della conferenza delle regioni per l'applicazione dell'accordo del 5 agosto 1999 sulla sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antiblastici in ambiente sanitario - Allegato al Decreto Regione Lombardia 11/12/2001 n.31139

i quali specificano nel dettaglio le procedure e i protocolli di prevenzione dell'esposizione e di tutela della salute dei lavoratori coinvolti in questo settore dell'attività ospedaliera.

L'implementazione del disposto normativo nell'insieme variegato del trattamento dei pazienti oncologici, prevalentemente affidato in Italia ancora al Servizio Sanitario Nazionale e ai Servizi Sanitari delle 20 regioni, comporta la necessità di adeguarne l'applicazione alla complessità organizzativa e alla specificità del servizio sanitario offerto. Nel panorama nazionale esso varia da piccole realtà ospedaliere o poli-ambulatoriali locali, a grandi ospedali poli-specialistici e a strutture di cura a carattere scientifico che trattano ogni anno decine di migliaia di pazienti, di provenienza nazionale e internazionale svolgendo nel contempo, attività di ricerca farmacologica e clinica. Quest'ultima attività, nella quale è spesso implicato l'uso di sostanze o

di condizioni di trattamento per le quali non sussistono ancora informazioni sufficienti a garantire protocolli di sicurezza per gli operatori, rappresenta un aspetto di ulteriore complessità sotto il profilo dell'elaborazione ed implementazione delle strategie di prevenzione.

1 - INTRODUZIONE

1.1. I tumori. Carico della malattia in Italia

I tumori rappresentano la seconda causa di morte nei paesi industrializzati, seconda solamente alle malattie cardiovascolari. Stime aggiornate sull'andamento della casistica relativa alla diagnosi di neoplasie sono ormai facilmente reperibili sul web dove organi internazionali accreditati (IARC, NIOSH e altri) forniscono periodicamente aggiornamenti in materia. Lo scenario italiano, in un aggiornamento al 2008 (<http://globocan.iarc.fr/factsheet.asp>) stimato per una popolazione di circa 60 milioni di abitanti, conta ogni anno circa 340 mila nuovi casi di tumore con un tasso di incidenza di circa 1/180, che si vanno a sommare a quelli già registrati per costituire più di un milione di persone malate (tasso di prevalenza 1/60). Circa il 98% delle neoplasie viene trattato farmacologicamente. Circa l'85% delle cure mediche delle neoplasie prevede l'uso di farmaci chemioterapici. Le quantità di CA somministrate ai pazienti variano, in funzione delle caratteristiche dei farmaci utilizzati, della natura specifica della malattia, del suo stadio di evoluzione e delle condizioni generali dei singoli pazienti, da qualche centinaia di milligrammi sino a diversi grammi per volta.

1.2. Impiego dei farmaci antitumorali

I farmaci antitumorali rappresentano una delle voci più cospicue della nostra spesa farmaceutica. I dati disponibili possono essere derivati in via estremamente incerta dall'analisi dei bilanci della Sanità ormai di esclusiva pertinenza delle 20 Regioni italiane. Tali dati sono tuttavia riportati, in forza del loro impiego ai fini della programmazione finanziaria, come entità degli importi economici, dai quali è virtualmente impossibile desumere l'informazione basilare per le valutazioni igienistiche, ovvero le quantità (in unità ponderali, grammi o chilogrammi, oppure in numero di confezioni) utilizzate su base annua per i diversi principi attivi. In Italia la produzione di principi attivi è assai limitata, in quanto le grandi Società multinazionali hanno da tempo ristretto la produzione a pochi centri, per quanto noto solo uno essendo rimasto in Italia: l'ex-stabilimento Farmitalia-Carlo Erba nei dintorni di Ascoli Piceno). Per questa ragione, e per comprensibili motivi di riservatezza industriale e commerciale, le Società sono restie a divulgare, anche per ragioni legittime di ricerca, l'entità delle loro vendite in Italia.

Nel 1998 il nostro gruppo (allora operativo presso una Unità Operativa Ospedaliera di Medicina del Lavoro U.O.O.M.L. di Milano) poté ottenere alcuni dati da poche Società i cui funzionari ben compresero lo scopo della richiesta ed acconsentirono a fornire alcune informazioni. Tali risultati sono riportati nella Tabella 1.1 e consentono di stimare la quantità dei diversi principi attivi usata per le cure farmacologiche a livello nazionale, in un intervallo tra 1 chilogrammo e 0,5 tonnellate /anno.

Tabella 1.1 - Dati liberamente rilasciati sotto richiesta da industrie farmaceutiche produttrici di chemioterapici. Non sono disponibili dati ufficiali.

Consumi dei principi attivi più utilizzati in Italia (1995-99)	
5-Fluorouracile	400 Kg/anno
Ciclofosfamide	300 Kg/anno
Ifosfamide	170 Kg/anno
Gemcitabina	100 Kg/anno
Antracicline (composti totali)	20 Kg/anno
Composti del platino (totale)	10 Kg/anno
Vincristina (alcaloidi totali)	2 Kg/anno

A conferma del continuo e sempre più massiccio utilizzo di farmaci chemioterapici l'ultimo aggiornamento dei primi 35 farmaci considerati da IARC (International Agency of Research on Cancer) , divulgato da NIOSH (National Institute of Occupational Safety & Health Alert 2010 "List of antineoplastic and other Hazardous Drugs in healthcare settings" <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2012-150/pdfs/2012-150.pdf>) contempla circa un centinaio di preparati antineoplastici normalmente impiegati per i quali l'ente suggerisce massima cautela di utilizzo. Si sono inoltre diversificate le vie di somministrazione: dall'impiego pressoché esclusivo della via parenterale, per iniezione o infusione, di soluzioni dei farmaci si è passati a metodologie diversificate, quali l'instillazione endovesicale per il trattamento del tumore della vescica, l'infusione loco-regionale, anche eseguita a cielo aperto al tavolo operatorio, la somministrazione per infusione continua lenta e crono modulata da parte di dispositivi a pompa impiantati nel corpo del paziente, che può così essere restituito al proprio domicilio e ritorna in ospedale solo per il riempimento della camera di infusione.

I dispositivi di confinamento monouso costituiscono un importante ausilio alla de-ospedalizzazione dei trattamenti chemioterapeutici antitumorali, in quanto attraverso il loro impiego le dosi terapeutiche possono essere preparate in strutture periferiche prive della complessa infrastruttura richiesta per il lavoro a grande scala e addirittura al domicilio del paziente.

Tutti questi nuovi scenari ampliano quelli tradizionali di esposizione del personale sanitario e costituiscono nuovi argomenti di ricerca e di intervento.

1.3. Stima del numero di operatori addetti alla manipolazione e somministrazione di CA

Considerando le stime riportate sopra, il trattamento di circa un milione di persone l'anno per cancro (in Italia), si traduce nella preparazione e somministrazione di circa 10 milioni di dosi l'anno. Ipotizzando una struttura sanitaria operativa ogni 10000 abitanti (secondo un recente censimento, sono stati contati sul territorio nazionale 424 centri oncologici distinti tra Unità Operative di Oncologia Medica e Unità Semplici e/o servizi di Oncologia Medica, Libro Bianco dell'Oncologia Italiana terza edizione 2006), il servizio sanitario nazionale può contare su circa 500 centri operativi. Sulla base della necessità di consentire rotazione del personale addetto

alla preparazione e somministrazione di CA, considerando almeno 10 unità per ciascun reparto, il numero totale di operatori nei reparti oncologici, può essere ragionevolmente stimato in 5000 unità.

1.4. Chemioterapici antitumorali: meccanismi di azione e tossicità

Con il termine chemioterapia si intende comunemente l'insieme di trattamenti farmacologici mirati alla cura dei tumori. Spesso si usano indistintamente i termini "antineoplastico" e "citotossico" come aggettivi per farmaci utilizzati nelle chemioterapie per contrastare le più svariate forme di neoplasia. In realtà non tutti gli agenti antineoplastici sono citotossici, né le sostanze citotossiche sono da considerarsi a uso esclusivo nella cura dei tumori. Con questo termine, ampio e generico ma altrettanto ampiamente utilizzato e compreso, si fa infatti riferimento ad agenti chimici genotossici, oncogeni, mutageni, teratogeni e in senso più generale pericolosi per la salute umana. Per "chemioterapico antitumorale" (CA) si intende una vasta gamma di farmaci eterogenei in grado di inibire la proliferazione e la replicazione cellulare e per queste loro proprietà utilizzati nel trattamento dei pazienti con neoplasia.

Il meccanismo dell'azione terapeutica sulle cellule tumorali è l'inibizione delle funzioni proliferative. Poiché la specificità e la selettività dell'azione terapeutica sono limitate, oggi sono disponibili numerose sostanze ad attività antitumorale, di diversa origine, struttura chimica ed effetti (Calabresi et al 2001, Chabner et al 2001). I tumori sono masse cellulari eterogenee nelle quali esistono profonde differenze di sensibilità individuale all'azione dei farmaci. Tali differenze giustificano l'uso della somministrazione contemporanea di più farmaci caratterizzati da meccanismi d'azione diversi, per ottenere il massimo effetto citotossico. A ciò si associa tra l'altro una maggiore probabilità di limitare l'insorgenza di cloni di cellule resistenti.

Tutti i farmaci antitumorali sono dotati di tossicità a carico di tessuti, organi ed apparati (tossicità sistemica), in particolar modo per quelli a più rapida proliferazione. Ciò rende ragione degli effetti collaterali che ostacolano, in base alla suscettibilità individuale del paziente, l'applicazione dei protocolli farmacologici e il decorso di molti trattamenti. Sono noti in particolare, danni al midollo osseo e al sistema ematopoietico (anemia, mielotossicità con riduzione delle difese immunitarie), agli epitelii dei bulbi piliferi (alopecia non solo a livello del capo ma, nei casi più severi anche agli annessi cutanei più resistenti, quali le ascelle e l'area pubica), alle mucose del tratto oro-faringeo, gastro-intestinale e colon-retto (mucositi con impossibilità di alimentarsi, ulcerazioni sanguinolente e diarrea con più elevata possibilità di infezione da parte di endosimbionti opportunisti), all'apparato urinario e al tratto riproduttivo maschile e femminile (cistite emorragica).

La naturale reazione dell'organismo all'ingestione di sostanze tossiche causa effetti tossici acuti, quali nausea, vomito, febbre, insufficienza renale e reazioni allergiche (orticaria, anafilassi, angioedema, asma bronchiale). Come conseguenza dell'azione mielotossica si possono avere leucopenie trombocitopenie con sepsi e sindromi emorragiche. Poco dopo la somministrazione del farmaco si possono inoltre manifestare stomatite, infiltrati polmonari, alterazioni del nervo acustico, ipercalcemia, atassia cerebrale, psicosi.

Effetti ritardati del trattamento con alcuni farmaci possono essere, in funzione del principio attivo considerato, anemia, lesioni epatocellulari, neuropatia periferica, disturbi della sfera sessuale e riproduttiva (ipogonadismo, diminuzione della libido, amenorrea, azospermia e sterilità dei due sessi). La gran parte degli effetti menzionati affligge in media il 50% dei pazienti trattati in forma transitoria e in alcuni casi reversibile al cessare della terapia.

Alcuni antitumorali sono dotati di proprietà mutagena, teratogena e cancerogena (tossicità genomica), in quanto inibitori della crescita cellulare. Essi inducono alterazioni del DNA o della divisione cellulare con conseguente morte delle cellule in replicazione (Schmaehl et al 1977, Alwood et al 1993,). Poiché l'esito di molti trattamenti antitumorali, radiologici e di chemioterapia, è la sopravvivenza dei pazienti anche per lustri o decenni dopo la dichiarata 'guarigione' (*long-term survivors*), tali caratteristiche di cancerogenicità rendono ora necessario valutare l'eventuale insorgenza di secondo tumore in pazienti precedentemente trattati con farmaci antitumorali, specialmente della classe degli alchilanti (di cui tipico rappresentante è la Ciclofosfamide) o con radiazioni ionizzanti.

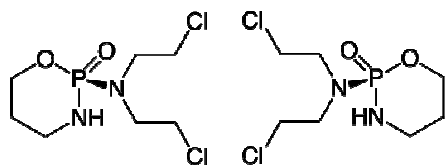
L'impiego di alcuni farmaci della classe dei CA non è limitato al trattamento dei tumori, ma l'effetto collaterale costituito dalla loro mielosoppressione viene anche sfruttato in senso immunosoppressivo per il trattamento di patologie autoimmuni come l'artrite reumatoide (Metotressato e Ciclofosfamide) e la psoriasi (Metotressato), per il trapianto di organi (Metotressato e Azatioprina), per la talassemia (Idrossiurea) (Calabresi et al 2001).

1.5. Informazioni generali sui farmaci antitumorali per i quali è stato chiesto il monitoraggio

Nell'esperienza ventennale del nostro gruppo la richiesta del monitoraggio della contaminazione negli ambienti di lavoro ospedalieri (farmacie di preparazione e ambulatori di somministrazione) ha riguardato un gruppo di farmaci tra loro spesso disomogenei per classe chimica e caratteristiche tossicologiche, ma accomunati da criteri quali la frequenza d'uso, le elevate quantità prescritte ai pazienti, alcune preoccupazioni di carattere igienistico e tossicologico, in particolare la loro classificazione quali agenti cancerogeni da parte della IARC. Per questi farmaci si riportano informazioni di natura farmacologica e tossicologica funzionali all'obiettivo di meglio inquadrare il problema sotto l'aspetto igienistico. Si riportano inoltre, alcuni dei più classici protocolli di utilizzo a titolo esemplificativo delle quantità impiegate per ciascun farmaco considerato, tenendo nella dovuta considerazione quelle che sono le patologie neoplastiche maggiormente diffuse in Italia (secondo rilevazione dell'International Agency of Research on Cancer 2008: <http://globocan.iarc.fr/>)

1.5.1. Ciclofosfamide (L01 AA01)

Classificazione IARC: **1 (cancerogeno per l'uomo)** (S7, 1987)



La *ciclofosfamide* è un pro-farmaco delle mostarde azotate, inattiva come tale, ma che va incontro a bioconversione epatica a metaboliti farmacologicamente attivi. È assorbita efficacemente dal tratto gastroenterico (biodisponibilità maggiore del 75%). Viene largamente distribuita nei tessuti ed è in grado di superare la barriera emato-encefalica e quella placentare e può essere misurata anche nel latte materno. Il farmaco e i suoi metaboliti sono ampiamente distribuiti nell'organismo ed oltre il 95% della dose viene escreta nelle urine entro le 48 ore successive alla somministrazione, principalmente sotto forma di metaboliti e solo in piccola quota sotto forma del farmaco immodificato. Una quota minore del farmaco e dei suoi metaboliti è anche escreta con la bile e nelle feci.

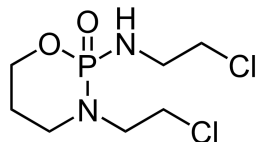
Dosi terapeutiche. La ciclofosfamide è normalmente somministrato a regimi con intervallo da 2 a 6 mg/kg al giorno, per via orale o endovenosa, o da 60-80 mg/kg come dose endovenosa singola ogni 3 o 4 settimane.

Tabella 1.2 - Esempi di protocolli d'impiego di Ciclofosfamide.
Fonte: STAMPA DATABASE/Farmaci Antineoplastici.htm LaTMA 1999

Indicazione	Nome protocollo	Farmaco	Dosaggio
Mammella	FAC	AA01 ciclofosfamide	500 mg/m²
		BC02 fluoruracile	500 mg/m ²
		DB01 adriamicina	50 mg/m ²
Broncopolmonare	CAE	AA01 ciclofosfamide	1000 mg/m²
		CB01 etoposide	50-100 mg/m ²
		DB01 adriamicina	45 mg/m ²

1.5.2. Ifosfamide (L01 AA06)

Classificazione IARC: **3 (non classificabile)** (S7, 1987)



L'ifosfamide è normalmente somministrata per via endovena, benché sia ben assorbita dal tratto gastrointestinale. È stato riferito che le farmacocinetiche dell'ifosfamide mostrano una considerevole variabilità interindividuale. È un pro-farmaco che è completamente metabolizzato, per lo più nel fegato dal sistema isoenzimatico del citocromo P-450, in metaboliti attivi e non attivi. L'ifosfamide si distribuisce nel liquido cerebrospinale. È largamente escreta nelle urine, come farmaco non trasformato e come metaboliti. Uno studio di 20 pazienti trattati con ifosfamide per endovena per la durata di 3 o 5 giorni, ha fatto registrare un tempo di emivita medio nei pazienti sotto i 60 anni pari a 3,85 ore contro le 6,03 ore dei pazienti sopra i 60 anni; questa differenza appare dovuta all'incremento del volume di distribuzione nei più anziani. L'autoinduzione del metabolismo, tipicamente vista con dosi ripetute, non è influenzata dall'età.

Tabella 1.3 – Esempio di protocolli d'impiego di Ifosfamide.

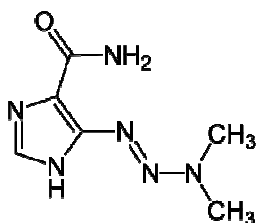
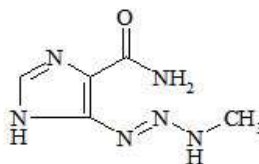
Fonte: STAMPA DATABASE/Farmaci Antineoplastici.htm LaTMA 1999

<i>Indicazione</i>	<i>Nome protocollo</i>	<i>Farmaco</i>	<i>Dosaggio</i>
apparato genitale maschile	PEI	AA06 ifosfamide	2000-2500 mg/m²
		CB01 etoposide	100 mg/m ²
		XA01 cisplatino	40 mg/m ²
apparato genitale femminile	BIP	AA06 ifosfamide	5000 mg/ m ²
		DC01 bleomicina	30 mg/m ²
		XA01 cisplatino	50 mg/ m ²
		z-R05CB05 mesna	6000 mg/m ²

Ciclofosfamide e Ifosfamide sono agenti alchilanti appartenenti alla famiglia delle mostarde azotate, caratterizzate dalla formula generale $R-N(CH_2-CH_2-Cl)_2$ nella quale si nota la presenza di due gruppi cloroetilici fortemente elettrofili. Le mostarde sono altamente reattive verso le basi puriniche e pirimidiniche del DNA. Essendo reagenti alchilanti bifunzionali sono in grado di dare legami crociati tra due filamenti distinti di DNA. Gli effetti tossici più comuni sono a carico del midollo osseo, con prevalenza di neutropenia. Nausea e vomito sono frequenti ma di breve durata. L'alopecia compare in genere dopo 2-4 cicli di trattamento. Il trattamento prolungato può provocare amenorrea nelle donne e oligospermia o azoospermia negli uomini.

1.5.3. Dacarbazina (L01 AX4)

Classificazione IARC: **2B (possibile cancerogeno)** (S7, 1987)

**Dacarbazina****5-(3-metil-1-triazeno)imidazole-4-carbossamide (MTIC)**

Nell'ambito degli agenti alchilanti, la Dacarbazina, appartenente al gruppo dei Triazeni, esplica un'azione metilante dopo bioattivazione epatica. È mal assorbita dal tratto gastrointestinale. Per iniezione endovenosa è rapidamente distribuita con una emivita plasmatica iniziale di circa 20 minuti; viene riferito che l'emivita di eliminazione è di circa 5 ore. Attraversa la barriera emato-encefalica in proporzioni limitate con concentrazioni nel liquido cerebrospinale pari al 14% di quelle plasmatiche. La Dacarbazina è completamente metabolizzata nel fegato dal sistema isoenzimatico del citocromo P-450 nel suo metabolita attivo 5-(3-metil-1-triazeno)imidazole-4-carbossamide (MTIC), che spontaneamente decompone nel metabolita principale 5-aminoimidazole-4-carbossamide. Metà di una dose circa è escreta come non trasformata nelle urine per secrezione tubolare.

La tossicità a livello del tratto gastrointestinale è notevole e più del 90% dei pazienti trattati presenta nausea e vomito dopo circa 2 ore dalla somministrazione. La mielodepressione è lieve, mentre possono presentarsi casi di tossicità epatica, alopecia e reazioni dermatologiche.

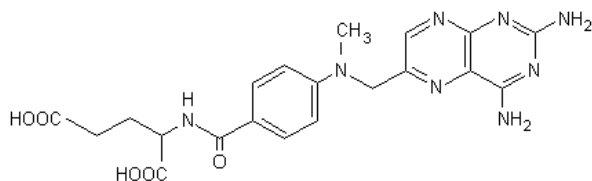
Tabella 1.4 – Esempi di protocolli d'impiego di Dacarbazina.

Fonte: STAMPA DATABASE/Farmaci Antineoplastici.htm LaTMA 1999

Indicazione	Nome protocollo	Farmaco	Dosaggio
Sarcomi dei tessuti molli	AID	AA06 ifosfamide	2500 mg/m ²
		AX04 dacarbazina	300 mg/m²
		DB01 adriamicina	20 mg/m ²
Sarcomi dei tessuti molli	CYVADIC	AA01 ciclofosfamide	500 mg/m ²
		AX04 dacarbazina	250 mg/ m²
		CA02 vincristina	1,0 mg/m ²
		DB01 adriamicina	50 mg/m ²

1.5.4. Metotressato (L01 BA01)

Classificazione IARC : **3 (non classificabile)** (S7, 1987)



Il **Metotressato** appartiene alla categoria degli antimetaboliti, farmaci ciclo-dipendenti che agiscono interferendo con la sintesi degli acidi nucleici, è un analogo dell'acido glutammico che compete con il diidrofolato per l'enzima diidrofolato reduttasi. Inibisce la sintesi del DNA in quanto previene l'attivazione dell'acido diidrofolico a tetraidrofolico, un coenzima essenziale nella sintesi delle purine. La grave tossicità del farmaco si esplica in tutti i processi di replicazione cellulare dell'organismo, soprattutto a carico dei tessuti a più elevato ricambio cellulare, come il midollo osseo e gli epiteli. Infatti, poco dopo la somministrazione di dosi elevate, è necessario proteggere il sistema emopoietico con acido folinico (leucovorina), una forma già attiva dell'acido folico. Data la sua tendenza a precipitare nei tubuli renali, il paziente trattato con MTX deve essere altamente idratato, e si deve provvedere all'alcalinizzazione delle urine. Il metotressato è molto tossico per l'embrione in sviluppo ed è capace di indurre aborti nel primo trimestre di gravidanza. È prontamente assorbito dal tratto gastrointestinale ma può anche essere somministrato per via endovenosa o intratecale. A basse dosi, il 40-50% del farmaco assorbito viene eliminato immodificato nelle urine mentre nel caso di dosi maggiori, l'escrezione urinaria del farmaco tal quale sale a circa il 90%. Una piccola quantità viene escreta attraverso le feci grazie all'escrezione biliare. La sua biotrasformazione dà luogo a numerosi metaboliti, tra cui il 7-idrossi-metotressato che è potenzialmente nefrotossico.

Dosi terapeutiche

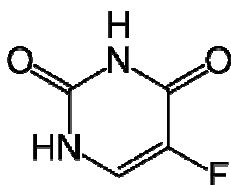
La somministrazione orale varia generalmente da 10 a 25 mg /settimana, tuttavia in tabella si può notare la grande variabilità di impiego a seconda delle patologie e dei corrispondenti protocolli terapeutici.

Tabella 1.5 - protocolli esemplificativi per la stima d'impiego di Metotrexato. STAMPA
DATABASE/Farmaci Antineoplastici.htm LaTMA 1999

Indicazione	Nome protocollo	Farmaco	Dosaggio
leucemia linfoblastica acuta	Centro tedesco trial induzione (fase II)	AA01 ciclofosfamide	650 mg/m ²
		BA01 metotrexate	10 mg/m²
		BB02 mercaptopurina	60 mg/m ²
		BC01 ara-C	75 mg/m ²
osteosarcoma	protocollo T 10-MSKCC fase preoperatoria	AA01 ciclofosfamide	600 mg/m ²
		BA01 metotrexate	8000-12000 mg/m²
		DA01 actinomicina D	0,6 mg/m ²
		DB01 adriamicina	30 mg/m ²
		DC01 bleomicina	15 U/m ²
		z-V03AF03 leucovorin	10-15 mg

1.5.5. 5-Fluorouracile (analoghi pirimidinici)

Classificazione IARC : **3 (non classificabile)** (S7, 1987)



Il **5-Fluorouracile** è una pirimidina fluorinata analoga dell'uracile. L'azione farmacologica peculiare è quella di inibire la biosintesi dei nucleotidi pirimidinici o purinici, i "mattoni" essenziali che costituiscono gli acidi nucleici (DNA ed RNA). Si tratta di un "profarmaco" la cui attività citotossica viene esplicata cioè soltanto in vivo dopo incorporazione nel corrispondente deossinucleotide monofosfato o nel nucleotide trifosfato. Nel primo caso, esso inibisce irreversibilmente la timidilato sintetasi bloccando la sintesi del DNA, mentre nel secondo provoca la sintesi di RNA anomalo e quindi di proteine anomale. Viene somministrato prevalentemente per via endovenosa data l'imprevedibilità dell'assorbimento orale. Può anche essere utilizzato per via topica nel caso di tumori cutanei. Il farmaco è eliminato rapidamente dal plasma con emivita media di circa 16 minuti. Si distribuisce attraverso i tessuti del corpo, fluidi inclusi, attraversano la barriera ematoencefalica per apparire nel liquido cerebrospinale, e scomparire dal plasma entro 3 ore circa. Nelle cellule bersaglio il fluorouracile è convertito a 5-fluoridina monofosfato e a fluxoridina monofosfato (5-fluorodeossiuridina monofosfato), quest'ultima subisce la conversione a trifosfato il quale può essere incorporato nel RNA mentre la prima inibisce la timidilato sintetasi. Il 15% di una dose endovenosa è escreta non trasformata nelle urine entro 6 ore. Il resto è inattivato principalmente mediante riduzione dell'anello pirimidinico ad opera dell'enzima diidropirimidina deidrogenasi: il deficit genetico di questo enzima causa un notevole aumento della sensibilità al farmaco. Una grande quantità è escreta come anidride carbonica per via respiratoria; sono inoltre prodotti urea e altri metaboliti. Tra gli effetti tossici vi sono anoressia, nausea, ulcerazioni della mucosa gastrointestinale e, in alcuni casi, diarrea fulminante. La mielodepressione causa trombocitopenia e anemia. L'alopecia è comune. Sono state riscontrate alcune manifestazioni neurologiche gravi come la sindrome cerebellare acuta e la mielopatia dopo somministrazione intratecale.

Dosi terapeutiche

Il dosaggio prevede inizialmente 12 mg/kg al giorno intravena, fino ad un massimo di 1g al giorno, per 3 o 4 giorni.

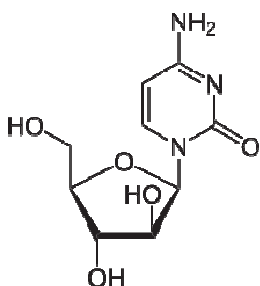
Tabella 1.6 - Esempi di protocolli d'impiego di 5-Fluorouracile.
Fonte: STAMPA DATABASE/Farmaci Antineoplastici.htm LaTMA 1999

Indicazione	Nome protocollo	Farmaco	Dosaggio
mammella	CMFVP	AA01 ciclofosfamide	60 mg/m ²
		BA01 metotrexate	15 mg/m ²
		BC02 fluoruracile	300 mg/m²
		CA02 vincristina	0,6 mg/m ²

		z-A07EA03prednisone	20 mg/m ²
tratto alimentare	fluoruracile e cisplatino	BC02 fluoruracile	1000 mg/m²
		XA01 cisplatino	20 mg/m ²

1.5.6. Citarabina (L01 BC01)

Classificazione IARC : **3 (non classificabile)** (S7, 1987)



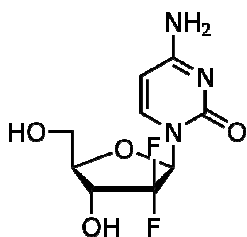
La **Citarabina** è una sostanza analoga alla deossicitidina, che compete come inibitore della DNA polimerasi, un enzima essenziale per la sintesi e la riparazione del DNA. È un farmaco ciclodipendente. I suoi effetti tossici principali sono a carico del midollo osseo e del tratto gastrointestinale. Può causare anche alopecia e alterazioni neurologiche. Viene somministrato per via endovenosa e intratecale. Dopo infusione, scompare rapidamente del plasma con un'emivita iniziale di circa 10 minuti; l'emivita di eliminazione è compresa nell'intervallo di 1-3h. Viene convertita per fosforilazione in una forma attiva, rapidamente deaminata, soprattutto nel fegato e nei reni, ad 1-β-D-arabinofuranosiluracile (ara-U) inattivo. La dose somministrata è prevalentemente escreta nelle urine entro 24h, per lo più come metabolita inattivo e il 10% circa come Citarabina non trasformata. La somministrazione orale è sconsigliata in quanto la biodisponibilità orale è solo del 20%.

Tabella 1.7 – Esempi di protocolli d'impiego di Citarabina (ara-C)
Fonte: STAMPA DATABASE/Farmaci Antineoplastici.htm LaTMA 1999

Indicazione	Nome protocollo	Farmaco	Dosaggio
neuroblastoma nell'infanzia	NASE	AA01 ciclofosfamida	20-80 mg/kg
		BC01 ara-C	3 mg/kg
		BC02 fluoruracile	1,0 mg/kg
		CA02 vincristina	0,1 mg/kg
		DB01 adriamicina	15 mg/m ²
		XX05 idrossiurea	40 mg/kg
linfoma di Burkitt	fase II	BA01 metotrexate	10 mg/m ²
		BC01 ara-C	1000 mg/m²
		XA01 cisplatino	80 mg/m ²

1.5.7. Gemcitabina (L01 BC05)

Classificazione IARC : **3 (non classificabile)** (S7, 1987)



La **Gemcitabina** è un analogo del nucleoside desossicitidina. Il farmaco viene attivato dalla desossicitidina chinasi e inibisce la sintesi del DNA essendo incorporato al posto della citosina nel filamento in crescita di DNA. Viene somministrato per via endovenosa. È rapidamente eliminato dal sangue e metabolizzato dalla citidina deaminasi nel sangue, fegato, reni e in altri tessuti. L'eliminazione è approssimativamente più bassa nella donna rispetto all'uomo del 25%.

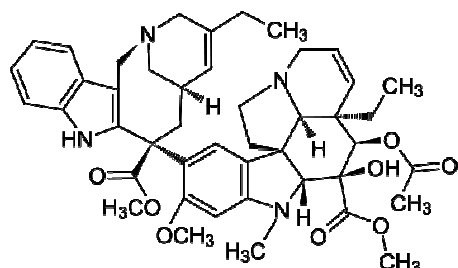
La dose somministrata viene prevalentemente escreta nelle urine come 2'-deossi-2',2'-difluoridina (dFdU), solo l'1% si trova nelle feci. Il metabolismo intracellulare produce metaboliti mono-(inattivo), di-, trifosfato, attivi. Dosi terapeutiche di Gemcitabina possono determinare depressione midollare grave, nausea, vomito, eruzioni cutanee e alopecia.

Dosi terapeutiche

Di solito è somministrata per endovena alla dose di 1g/m^2 per circa un ora una volta a settimana; modificata a 1250 o 1500 mg/m^2 in base alla risposta e alla tossicità.

1.5.8. Vinorelbina (L01 CA04)

Classificazione IARC : non valutato



La **Vinorelbina** appartiene alla famiglia degli Alcaloidi della Vinca, agisce legandosi alla tubulina, una proteina citoplasmatica strutturale, la cui polimerizzazione è il primo stadio dell'assemblaggio dei microtubuli. La formazione dei microtubuli, essenziale per il processo mitotico (replicazione cellulare), spiega l'azione antiproliferativa del

farmaco. La somministrazione indicata è per via endovenosa a causa delle sue proprietà vescicanti, tuttavia è l'unica che può essere somministrata anche per via orale. Mostra farmacocinetiche trifasiche dopo iniezioni endovenosa, e ha una emivita di eliminazione compresa tra le 28-44 h: è rapidamente assorbita dal tratto gastrointestinale con picchi di concentrazione plasmatica raggiunti tra le 1,5-3h dopo somministrazione di dosi orali. Il metabolismo a livello epatico produce la deacetilvinorelbina avente attività antineoplastica. Le principali vie di escrezione della Vinorelbina sono quelle biliari e urinarie (una percentuale pari al 15% delle quali sono di farmaco tal quale).

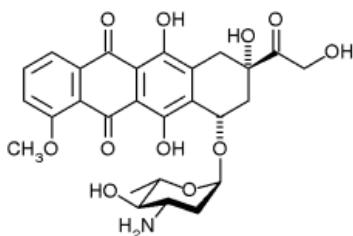
Tabella 1.8 – Esempi di protocolli d'impiego di Vinorelbina (ara-C)

Fonte: STAMPA DATABASE/Farmaci Antineoplastici.htm LaTMA 1999

<i>indicazione</i>	<i>nome protocollo</i>	<i>farmaco</i>	<i>dosaggio</i>
broncopolmonare	CN	CA04 vinorelbina	25 mg/m^2
		XA01 cisplatino	90 mg/m^2

1.5.9. Epirubicina (L01 DB03)

Classificazione IARC : non valutato



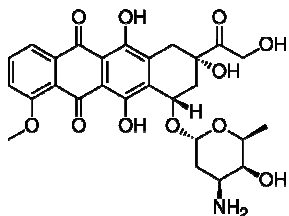
Appartiene alla famiglia delle antracicline, derivanti da sostanze naturali che contengono un anello antraciclinico legato ad uno zucchero atipico, la daunosamina. Ha la capacità di intercalarsi tra le catene del DNA compromettendone la funzionalità e provocandone la rottura. Una volta infusa, l'epirubicina è rapidamente ed estensivamente distribuita nei tessuti del corpo, subisce metabolismo nel fegato, con formazione di epirubicinolo (13-idrossiepirubicina) e quantità apprezzabili di derivati glucuronici. Può interagire con le membrane cellulari alterandone le funzioni, una proprietà che sembra importante sia per l'attività che per la tossicità (es. quella cardiaca). La mielodepressione è l'effetto dose limitante principale. Viene eliminata soprattutto nella bile, con un' emivita della fase di eliminazione di 30 a 40 ore. Il 10% del somministrato viene escreto nelle urine entro le 24 ore. L'epirubicina non attraversa la barriera ematoencefalica.

Stomatite, alopecia e disturbi gastrointestinali sono comuni ma reversibili. La cardiomiopatia, un effetto collaterale caratteristico di questa classe di CA, può essere acuta (raramente grave) o cronica (mortale nel 50% dei casi). Tutti gli antibiotici antraciclinici sono potenzialmente mutageni e cancerogeni. Essendo sostanze vescicanti, essi devono essere somministrati per via endovenosa. Penetrano scarsamente nel sistema nervoso centrale e vengono eliminati sotto forma di metaboliti attraverso la via biliare e urinaria.

1.6. ALTRI FARMACI ANTITUMORALI PER I QUALI SONO STATE SVOLTE INDAGINI DI MONITORAGGIO NEI LUOGHI DI LAVORO OSPEDALIERI.

1.6.1. Doxorubicina (I01 DB01)

Classificazione IARC: **2A (probabile cancerogeno)** (S7, 1987)



La Doxorubicina appartiene, come Epirubicina, al gruppo delle Antracicline per cui valgono le stesse considerazioni di natura chimica e tossicologica relative alla modalità dell'azione citotossica esplicata sul DNA. La Doxorubicina è rapidamente eliminata dal sangue, e si distribuisce nei tessuti inclusi polmoni, fegato, cuore, milza e reni. Viene rapidamente metabolizzata a livello epatico con

produzione di diversi metaboliti tra cui il doxorubicinolo (adriamicinolo, attivo). È stato appurato che circa il 40-50% della dose somministrata è escreta nella bile entro 7 giorni, per metà come farmaco non trasformato. Solo il 5% circa della dose è eliminata nelle urine entro 5 giorni. Sono attualmente in corso studi relativi all'efficacia della somministrazione della Doxorubicina veicolata tramite microsfere polimeriche (TACE Transarterial Chemoembolization) in una procedura microinvasiva. L'occlusione dei vasi sanguigni, impedisce l'afflusso di sangue alle cellule cancerose che necrotizzano al rilascio del chemioterapico.

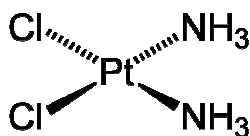
Tabella 1.9 – Esempi di protocolli per l'impiego di Doxorubicina (Adriamicina)

Fonte: STAMPA DATABASE/Farmaci Antineoplastici.htm LaTMA 1999

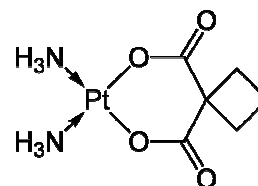
<i>Indicazione</i>	<i>Nome Protocollo</i>	<i>Farmaco</i>	<i>Dosaggio</i>
Tratto alimentare	EAP	CB01 etoposide	120 mg/m ²
		DB01 adriamicina	20 mg/m²
		XA01 cisplatino	40 mg/m ²
mammella	FEC	AA01 ciclofosfamide	500 mg/m ²
		BC02 fluoruracile	500 mg/m ²
		DB01 adriamicina	75 mg/m²

1.6.2. Composti del Platino (L01 XA01-XA02)

Classificazione IARC: **2A (probabile cancerogeno)** (S7, 1987)



Cis-Platino



CarboPlatino

Il **cisplatino** è un complesso del platino con due gruppi di cloro in posizione cis. Nel **carboplatino**, sviluppato per cercare di ridurre la marcata tossicità del cisplatino, il metallo è incorporato in una molecola organica più complessa. Per diversi aspetti essi sono simili mentre per altri si differenziano:

- reagiscono con il DNA formando legami crociati intracatena e intercatena, inibendo la replicazione e la trascrizione del DNA;
- sono attivati mediante idrolisi *in vivo* ma questa reazione è più lenta per il carboplatino. Il cisplatino possiede una maggiore affinità per le proteine plasmatiche e viene escreto lentamente per via renale. Entrambi sono somministrati per via parenterale e si distribuiscono in tutti i tessuti eccetto il sistema nervoso centrale. Entrambi vengono escreti in parte in forma immodificata;
- i composti del platino possiedono un profilo tossicologico simile anche se il carboplatino è generalmente meglio tollerato. La soppressione midollare è minore rispetto alle mostarde, mentre nausea e vomito sono forti e sempre presenti. Caratteristica è la grave nefrotossicità (prevenibile mediante abbondante idratazione) con ipomagnesia che può provocare episodi convulsivi nei bambini. Possono provocare ototossicità sino alla perdita dell'udito e neuropatie periferiche. Si può presentare anche mielodepressione, con leucopenia, trombocitopenia e anemia transitoria;
- il cisplatino e il carboplatino sono mutageni, teratogeni e cancerogeni.

Dosi terapeutiche:

Da 150 a 200 mg/m² per endovena come dose singola o divisa in due dosi date in giorni successivi.

Tabella 1.10 – Esempi di protocolli d'impiego di Cisplatino
Fonte: STAMPA DATABASE/Farmaci Antineoplastici.htm LaTMA 1999

Indicazione	Nome Protocollo	Farmaco	Dosaggio
broncopolmonare	VDS e cisplatino	CA03 vindesina	3 mg/m ²
		XA01 cisplatino	120 mg/m²
broncopolmonare	VP-16 e cisplatino	CB01 etoposide	100 mg/m ²
		XA01 cisplatino	25 mg/m²

2. ESPOSIZIONE PROFESSIONALE A CHEMIOTERAPICI ANTIBLASTICI

2.1. Tossicocinetica e tossicodinamica

I CA possono essere dispersi nell'ambiente di lavoro allo stato solido, sotto forma di polveri, o, più frequentemente, allo stato liquido, in forma aerodispersa; meno rilevante è invece la dispersione sotto forma di vapore, essendo la tensione di vapore dei CA generalmente bassa.

Da un esame dei dati disponibili in letteratura si rileva che la via percutanea è la principale via di assorbimento dei CA. In uno studio del 1984, Hirst e Coll. hanno dimostrato che, applicando sulla cute ($S \sim 10 \text{ cm}^2$) 50 μl di una soluzione di Ciclofosfamide (CP) in metanolo di concentrazione pari a 20 mg/ml, si ha l'eliminazione urinaria di CP fino a 16 μg nelle 24h successive (Hirst et al 1984). Inoltre, se l'esposizione si accompagna a un'azione lesiva della cute nella sede di contatto, si facilita l'assorbimento degli agenti tossici.

L'assorbimento dei CA per via inalatoria può essere associato all'insorgenza di effetti diretti a carico delle mucose delle prime vie aeree e dei bronchi. L'esposizione per ingestione può conseguire alla deglutizione di muco proveniente dai meccanismi di epurazione bronchiale, al contatto delle mani contaminate con le mucose orali o all'ingestione di cibi contaminati. Non può infine essere escluso l'assorbimento attraverso le mucose oculari in occasione di massivi spandimenti accidentali.

Dopo l'assorbimento, i CA passano nel circolo ematico, sono distribuiti a livello sistemico e raggiungono i "tessuti bersaglio", dove esplicano l'effetto farmacologico, base dell'effetto terapeutico o di quello tossico. Infine, subiscono la trasformazione metabolica con conseguente eliminazione del farmaco tal quale o di eventuali metaboliti. Dalla metabolizzazione dei CA, che avviene soprattutto a livello epatico possono formarsi anche composti più tossici di quelli originari.

L'eliminazione di una sostanza tal quale o di un suo metabolita avviene principalmente per via urinaria, con l'eccezione di alcuni CA escreti per via digestiva (per esempio l'adriamicina è escreta con la bile) ed eliminati con le feci.

In particolare, CP è attivata a livello epatico dal citocromo P-450; inizialmente, è convertita a 4-idrossiciclofosfamide, che è in equilibrio con il tautomero aciclico, l'aldofosfamide. L'aldeide ossidasi epatica può ulteriormente ossidare questi composti dando origine ai metaboliti carbossifosfamide e 4-chetociclofosfamide, che non sono in grado di esercitare un'azione biologica significativa. Queste reazioni secondarie sembrano attenuare i danni epatici, mentre notevoli quantità di metaboliti attivati, come l'aldofosfamide, sono trasportate alle sedi bersaglio per mezzo del sistema circolatorio. L'aldofosfamide può essere scissa mediante una reazione di β -eliminazione, con produzione di quantità stechiometriche di fosforamide mostarda e acroleina. Quest'ultima potrebbe essere la causa delle cistiti emorragiche che si verificano nel corso della terapia con CP. L'eliminazione del farmaco avviene normalmente con le urine. Sebbene l'azione citotossica generale della Ciclofosfamide sia simile a quella di altri alchilanti, sono state osservate alcune importanti differenze. Il danno a carico dei megacariociti e la trombocitopenia sono meno frequenti rispetto alla Mecloretamina, mentre i follicoli piliferi sono in genere fortemente danneggiati con conseguente insorgenza di alopecia. Inoltre, non è stata osservata nessuna delle gravi manifestazioni acute a carico del sistema

nervoso centrale (SNC), che si verificano tipicamente con le mostarde azotate. Sintomi frequenti sono invece nausea e vomito. CP non è vescicante e non provoca irritazione locale.

I farmaci antineoplastici possono essere distinti in base al loro meccanismo d'azione. In generale, i CA rientrano essenzialmente in due gruppi: quelli che interferiscono con la sintesi dei precursori di DNA e RNA, e quelli che reagiscono chimicamente con il DNA (Eder et al1999). Gli agenti alchilanti rappresentano una delle classi di sostanze ad attività antiproliferativa di più comune impiego in clinica e possono essere distinti in:

- mostarde azotate (mecloretamina, ciclofosfamide, ifosfamide, melfalan, clorambucile);
- etilenimine e metilmelamine (esametilmelamina, tiotepa);
- alchil-solfonati (busulfan);
- nitrosouree (carmustina, lomustina, semustina, streptozocina);
- triazeni (dacarbazina).

Essi divengono potenti elettrofili in seguito alla formazione di intermedi carbocationici e di complessi di transizione con le molecole bersaglio e sono quindi in grado di dare luogo a legami covalenti attraverso l'alchilazione di nucleofili come i gruppi fosfato, amino, sulfidrilici, ossidrilici, carbossilici e imidazolo. L'uptake cellulare avviene per trasporto attivo nelle cellule con trasportatori fisiologici (per le mostarde azotate) o passivamente (per le nitrosouree). Il farmaco si decompone spontaneamente a pH fisiologico e gli ioni di cloroetil-diazonio o di carbonio alchilano il DNA o la proteina. Gli agenti alchilanti sono, quindi, effettivamente dei profarmaci. I siti di alchilazione includono proteine e nucleotidi e sono responsabili sia degli effetti terapeutici sia di quelli collaterali.

Gli agenti alchilanti bifunzionali possono portare alla formazione di legami crociati tra due catene di acidi nucleici oppure all'unione di un acido nucleico a una proteina e producono un danno maggiore al DNA rispetto agli alchilanti monofunzionali. Tra questi ultimi, la procarbazina è un profarmaco attivato nel fegato e trasformato in azossi composti alchilanti. Il meccanismo molecolare d'azione è l'alchilazione del DNA; tuttavia, la metilazione del DNA, il danno mediato da radicali liberi e l'inibizione della sintesi del DNA e delle proteine possono essere ulteriori meccanismi d'azione. Le risposte cellulari al danneggiamento del DNA comprendono l'interruzione del ciclo cellulare, la riparazione del DNA e l'apoptosi. Gli effetti dei farmaci alchilanti, sebbene dipendano dalla proliferazione cellulare, non sono ciclo-specifici e possono manifestarsi in qualsiasi fase del ciclo cellulare.

Il potenziale terapeutico antitumorale dei complessi di coordinazione del Pt è stato riconosciuto nel 1968, quando si osservò che correnti elettriche che attraversavano elettrodi di platino causavano crescita filamentosa in batteri, un segno di inibizione della sintesi del DNA. Il cis-platino, agente alchilante bifunzionale, si lega alla guanina del DNA e dell'RNA, con formazione di ponti intra e interfilamento, con conseguente inibizione della replicazione e trascrizione del DNA e quindi rottura della molecola di acido nucleico. Il meccanismo molecolare d'azione è lo svolgimento e l'accorciamento dell'elica del DNA. Gli effetti biologici sono dovuti anche a reazioni di sostituzione che comportano legami con proteine e altre macromolecole di importanza biologica cruciale. Il carboplatino è un analogo del cisplatino con lo stesso meccanismo di citotossicità, sviluppato per essere meno nefrotossico e limitare altri effetti collaterali.

Con il termine di antimetaboliti si definisce una classe di farmaci antitumorali caratterizzati da struttura chimica analoga a quella di metaboliti cellulari essenziali, con i quali si crea antagonismo a livello dei siti effettori. Da ciò può derivare il blocco di un sistema enzimatico o la sintesi di un composto metabolicamente inattivo o con attività differente da quella del composto fisiologico. Dal punto di vista pratico, tutti gli antimetaboliti interferiscono a vari livelli con la sintesi degli acidi nucleici e possono essere distinti in:

1. analoghi dell'acido folico (metotressato);
2. analoghi delle purine (6-mercaptopurina, 6-tioguanina);
3. analoghi delle pirimidine (5-fluorouracile, citosina-arabinoside, 5-fluorodesossiuridina, 5-azacitidina);
4. nuovi antimetaboliti (trimetressato, fludarabina).

Per esempio, il metotressato (MTX) è un analogo dell'acido folico e inibisce l'enzima diidrofolato riduttasi (DHFR). L'acido folico è un componente essenziale della dieta dal quale derivano una serie di cofattori tetraidrofolici che forniscono gruppi monocarboniosi per la sintesi di precursori di DNA (timidilato e purine) e RNA (purine). Per agire da cofattore nelle reazioni di trasporto delle unità monocarboniose, l'acido folico deve essere ridotto dall'enzima DHFR a tetraidrofolato. La sostituzione dell'idrossile con il gruppo NH₂ in posizione 4 trasforma MTX da substrato a inibitore del legame della diidrofolato riduttasi, provocando un deficit intracellulare acuto di alcuni coenzimi folici (es. timidilato sintasi) e un grande accumulo del substrato tossico (poliglutammato). La citarabina (AraC) e il 5-fluorouracile (5-FU) inibiscono la biosintesi dei nucleotidi pirimidinici o mimano questi metaboliti naturali interferendo con le funzioni vitali della cellula, quali sintesi o funzionalità degli acidi nucleici. Per esempio, AraC esplica la sua attività dopo trasformazione a nucleotide 5' -monofosfato (AraCMP) che reagisce con una chinasi nucleotidica formando nucleotidi difosfato e trifosfato (AraCTP). L'accumulo di AraCTP causa una potente inibizione della sintesi del DNA. L'inibizione della sintesi è legata all'incorporazione di AraC nella

posizione terminale di una catena di DNA in fase replicativa con conseguente mancato allungamento della catena stessa. Sembra anche che l'AraC incorporata nel DNA rallenti la funzione di stampo del DNA. Gli analoghi purinici costituiscono dei substrati eccellenti della ipoxantina fosforibosiltransferasi, enzima coinvolto nella sintesi dei nucleotidi purinici e interferiscono in tal modo con la sintesi delle purine. Tuttavia, il ruolo dell'incorporazione di tioguanina o mercaptopurina nel DNA non è ancora stato chiarito. Un altro possibile meccanismo d'azione sembra essere rappresentato dal blocco della sintesi di glicoproteine di membrana. In sostanza, gli analoghi purinici agiscono con molteplici meccanismi che coinvolgono sistemi vitali, quali la biosintesi delle purine, le interconversioni nucleotidiche, la sintesi di DNA e RNA, la replicazione cromosomica e la sintesi delle glicoproteine; pertanto, non è possibile identificare un singolo evento biochimico responsabile della loro attività.

Vincristina, vinblastina, vindesina e vinorelbina sono alcaloidi ottenuti dalla pianta di pervinca (Vinca rosea). Il meccanismo cellulare di azione degli alcaloidi della vinca è la prevenzione dell'assemblaggio del microtubulo, con conseguente arresto delle cellule durante la mitosi. Questi farmaci entrano nelle cellule con un meccanismo di trasporto energia-indipendente non saturabile e quindi si legano alla tubulina, proteina essenziale per la formazione dei

microtubuli del fuso mitotico, bloccandone l'attività. I microtubuli sono coinvolti anche in altre funzioni cellulari, quali movimento, fagocitosi e trasporto assonale.

Il paclitaxel è un complesso diterpina taxano isolato in origine dalla corteccia di tasso occidentale. I taxani sono antagonisti del disassemblaggio della tubulina, con un meccanismo cellulare d'azione che genera un effetto opposto a quello degli alcaloidi della vinca. I polimeri della tubulina sono costituiti da monomeri α e β e il processo di migrazione della tubulina implica allungamento di un'estremità e accorciamento dell'altra. Gli alcaloidi della vinca abbassano la velocità di associazione a un'estremità e prevengono la polimerizzazione dei dimeri α e β . I taxani stabilizzano i multimeri e prevengono la dissociazione all'estremità, dando maggior polimerizzazione. Entrambi gli effetti sull'equilibrio dinamico sono citotossici, poiché bloccano la mitosi.

Etoposide e tenoposide sono epipodofillotossine, derivate dalla podofillotossina, un estratto tubulino-legante della pianta della mandragora (*Mandragora officinarum*). Questi farmaci sono classificati come inibitori della topoisomerasi II e agiscono stabilizzando la scissione covalente normalmente transitoria del DNA in replicazione prodotta dalla topoisomerasi I e/o topoisomerasi II, la quale provoca la rottura del DNA a doppio filamento per infezione con l'apparato di replicazione del DNA e delle DNA polimerasi α e δ . Topoisomerasi I e II sono enzimi nucleari che scindono uno (Top I) o due (Top II) filamenti di DNA per permettere il passaggio da DNA avvolto a DNA svolto e liberare la tensione torsionale e per svolgere i segmenti di DNA intercollegati. Top I e/o Top II sono necessari per la replicazione del DNA e la trascrizione dell'RNA.

I composti appartenenti alla classe degli antibiotici antitumorali sono numerosi e vengono distinti in vari gruppi:

- Antracicline (adriamicina, daunorubicina, epirubicina, idarubicina).
- Mitoxantrone.
- Antrapirazoli.
- Antibiotici non antraciclinici (actinomicina-D, bleomicina, mitomicina-C, mitramicina).

La potenziale efficacia antitumorale delle antracicline è stata riconosciuta per la prima volta nel 1963, con la daunorubicina. Nel 1969 è stata scoperta l'adriamicina, uno dei farmaci antitumorali di maggiore efficacia e con un ampio spettro di attività, la cui diffusione clinica è però limitata dalla possibile comparsa di effetti cardiotossici irreversibili e dose dipendenti. Il meccanismo d'azione non è stato ancora definitivamente chiarito, ma attualmente l'opinione più accreditata è che l'azione antitumorale delle antracicline sia da attribuire o alla formazione di radicali liberi (che portano alla morte cellulare soprattutto attraverso la perossidazione dei lipidi di membrana) o a un'interferenza con la topoisomerasi II (determinando la rottura della doppia elica del DNA). Storicamente il primo meccanismo d'azione proposto consiste nella capacità dell'adriamicina di intercalare il DNA impedendo che la molecola di DNA funzioni da stampo per la DNA-polimerasi e la RNA-polimerasi, con conseguente arresto della sintesi dei due acidi nucleici. Tuttavia si ritiene che questa non rappresenti la principale modalità citotossica. Le antracicline, infine, interagiscono direttamente a diversi livelli con le strutture di membrana comportando alterazioni sia della membrana citoplasmatica sia di quella mitocondriale, con conseguente alterazione della permeabilità. Il mitoxantrone è classificato in questo gruppo di farmaci antiblastici, pur non essendo un antibiotico, per la sua analogia con

le antracicline. Per lo stesso motivo sono inclusi i farmaci antrapirazoli, un nuovo gruppo di sostanze strutturalmente analoghe al mitoxantrone. Gli antibiotici non antraciclinici agiscono fondamentalmente attraverso la capacità del farmaco di intercalare il DNA (arrestando in questo modo la sintesi del DNA, dell'RNA e delle proteine), di legare con il DNA, causandone la rottura (bleomicina), o di alchilare il DNA (mitomicina).

Si ipotizza che questi meccanismi tossicodinamici si verifichino anche nei lavoratori esposti e siano dunque alla base degli effetti indesiderati conseguenti alla esposizione occupazionale a CA.

2.2. Possibili effetti avversi nel personale addetto

Poiché non sono a oggi disponibili dati epidemiologici relativi al personale professionalmente esposto a CA, non è possibile individuare con certezza i sintomi derivanti dalla esposizione occupazionale a questi farmaci. Nel corso di alcune indagini effettuate in unità di preparazione di CA, gli operatori hanno segnalato l'insorgenza di sintomi (nausea, mal di testa, vertigini, perdita di capelli), in particolare quando la manipolazione dei farmaci avveniva in condizioni non protette (Tortorici et al 1980, Ladik et al 1980). La letteratura cita anche un caso di rash cutaneo perioculare e dispnea a seguito della preparazione di Vincristina (McDiarmid et al., 1988), e un caso di parestesia cutanea, seguita da vomito e diarrea, associata allo sversamento di 30 mg di Carmustina (McDiarmid et al., 1988). Tuttavia, è molto difficile stabilire con precisione una relazione di causalità tra l'entità dell'esposizione e i sintomi accusati.

Per classificare gli effetti derivanti dall'esposizione a CA, si deve pertanto fare riferimento alle reazioni osservate nei pazienti, ai quali i CA sono somministrati "a cicli" proprio per consentire all'organismo un periodo di recupero rispetto all'azione tossica dei farmaci.

Infatti, l'effetto terapeutico di distruzione delle cellule neoplastiche si accompagna frequentemente a una notevole tossicità, in particolare a carico dei tessuti caratterizzati da elevato ricambio cellulare (midollo, epiteli, gonadi).

Gli effetti indesiderati si possono distinguere in effetti tossici acuti, precoci, ritardati e tardivi.

Effetti tossici acuti. Sono nausea, vomito, febbre, lesioni ulcerative cutanee e mucose, cistite emorragica, insufficienza renale e reazioni allergiche, quali orticaria, anafilassi, angioedema, e asma bronchiale. In genere si manifestano poco dopo la somministrazione del farmaco.

Effetti tossici precoci. Sono conseguenti all'azione mielotossica dei CA con leucopenia, trombocitopenia (sepsi e sindromi emorragiche). In questa fase si possono manifestare anche alopecia, diarrea, stomatite, infiltrati polmonari, alterazioni del nervo acustico, ipercalcemia, danno renale, atassia cerebellare, psicosi.

Effetti tossici ritardati. Consistono in anemia, lesioni epatocellulari, neuropatia periferica, ipogonadismo e diminuzione della libido, amenorrea e, meno frequentemente, azoospermia, fibrosi polmonare, scompenso cardiaco e disfunzioni ormonali.

Effetti tossici tardivi. Possono manifestarsi sterilità, fibrosi epatica, encefalopatia e osteoporosi.

I CA, per le loro caratteristiche intrinseche, presentano un certo livello di mutagenicità, cancerogenicità e/o teratogenicità, dal momento che inibiscono la crescita cellulare inducendo alterazioni del DNA o della divisione cellulare e conseguente morte delle cellule in replicazione (Allwood et al 1993, Schmaehl et al 1977).

Il rischio di secondi tumori in pazienti sottoposti a trattamento è stato valutato in diversi tipi di studi epidemiologici: case-reports, clinical trials, studi basati su registri ospedalieri, studi di comunità (Baker et al 1987, Greene et al 1986, Haas et al 1987, IARC 1981, 1987, 1990, Kaldor et al 1990, Schmähl et al 1986). Alcuni ricercatori del National Cancer Institute (USA) segnalano per primi, nel 1972, il rischio di secondi tumori e soprattutto di leucemie acute, dopo terapia per la cura del morbo di Hodgkin (Fraumeni et al 1972). Donne che avevano assunto i CA durante la gravidanza hanno subito danni all'apparato riproduttivo, e sono stati osservati aborti spontanei, malformazioni fetali, parti prematuri (Gilliland et al 1983). Secondi tumori, in particolare leucemie acute, sono stati segnalati anche in seguito a trattamento per carcinoma ovarico (Greene et al 1986, Kaldor et al 1990, Kaldor et al 1987). Studi più recenti confermano tale effetto sui pazienti trattati (per lo più con Ciclofosfamide) come il *case report* italiano (Paladini et al., 2004) che attribuisce a esposizione ad antiblastici la malformazione riscontrata alle estremità degli arti in via di formazione del feto di paziente ricoverata per nefrite lupica sottoposta a somministrazioni di Prednisone (20 mg/die) e Ciclofosfamide 600 mg/m²/mese. Nello stesso periodo, altri lavori confermano gli effetti negativi sulla gravidanza di pazienti trattate per Ciclofosfamide (Vaux et al., 2003; Paskulin et al., 2005, Clowse et al., 2005).

L'associazione causale maggiormente studiata è quella fra trattamenti con agenti alchilanti e leucemia mieloide acuta, e fra trattamento con ciclofosfamide e tumore della vescica. Tali associazioni sono state rilevate in numerosi studi su pazienti trattati per linfoma di Hodgkin, ma anche per tumore ovarico, della mammella, del tratto gastroenterico, del polmone e per linfomi non Hodgkin e mieloma multiplo (Valagussa et al 1986). In questi ultimi, tuttavia, non è stato possibile isolare compiutamente l'effetto degli agenti alchilanti da quello di altri farmaci somministrati contemporaneamente. In altri tumori ematologici, oltre al linfoma di Hodgkin, è stata dimostrata una aumentata frequenza di leucemie in seguito a trattamenti con agenti alchilanti; in particolare è stato rilevato un aumento dei rischi nei pazienti con leucemia linfatica cronica, linfoma non Hodgkin e sindrome mielodisplastica.

Anche i tumori solidi mostrano un'aumentata frequenza in seguito a trattamento con antiblastici. Il maggior numero di informazioni riguarda i linfomi non Hodgkin e i tumori del polmone, ma sono segnalati anche secondi tumori della mammella, dello stomaco, delle ossa, della tiroide, melanoma cutaneo e, più recentemente, tumori del testicolo (Bokemeyer et al 1995). In letteratura non è invece segnalato alcun caso di leucemia in pazienti con carcinoma ovarico o morbo di Hodgkin.

Mustina, clorambucile e melfalan sono i farmaci dotati di maggiore effetto leucemogeno, mentre ciclofosfamide e treosulfan sono dotati di minor leucemogenicità.

Diversi studi hanno dimostrato l'esistenza di una correlazione tra il numero dei cicli di trattamento e gli effetti, e, per quanto riguarda la mostarda azotata, tra la dose totale somministrata e la stima del rischio (Boffetta et al 1994, Henry-Amar et al 1983, Kaldor et al 1986, Van Leeuwen et al 1989). Nelle leucemie indotte è stata identificata una delezione di

tutto o parte del cromosoma 5 o 7, o di entrambi all'interno delle cellule del midollo osseo. Tali anomalie cromosomiche sono in relazione con le leucemie indotte poiché interessano geni importanti per la proliferazione e differenziazione del tessuto emopoietico.

In generale, gli effetti provocati dai CA nei lavoratori esposti sono qualitativamente gli stessi riscontrati nei pazienti trattati, anche se l'entità dell'esposizione e quindi del rischio è senza dubbio differente. Le dosi che possono essere potenzialmente assorbite dagli addetti sono di gran lunga inferiori rispetto a quelle utilizzate in terapia, pur considerando che l'esposizione può protrarsi per lunghi periodi di tempo durante la vita lavorativa. Nei soggetti professionalmente esposti, gli effetti sono distinguibili in: acuti, cancerogeni, teratogeni e biologici precoci.

2.2.1 - Effetti acuti

Nel personale esposto a CA, in particolare ad agenti alchilanti, si possono riscontrare irritazioni a livello cutaneo o mucoso, per lo più a carico delle mucose orofaringee e nasali. Farmaci come la mostarda azotata e il fluorouracile sono dotati di azione irritante; altri, come doxorubicina e mustina idrocloruro, sono vescicanti. In seguito a contatti prolungati, l'adriamicina può provocare edema e ulcere necrotiche (Rudolph et al 1987).

Sono inoltre state descritte reazioni allergiche a livello cutaneo (Niklasson et al 1990) con eritema, prurito ed eruzioni orticarioidi, ma anche nausea, dispnea asmatiche (cisplatino, bleomicina) fino all'edema della glottide in caso di esposizioni acute conseguenti a spandimenti accidentali (Knowles et al 1980).

Vertigini, cefalea e vomito sono stati descritti in addetti alla manipolazione di CA in seguito a esposizioni protratte nel tempo e in assenza di protezioni individuali e ambientali (Crudi et al 1980).

Anche se per i lavoratori non sono stati segnalati effetti sistemici a carico del sistema emopoietico o patologie d'organo, descritti invece per i pazienti in trattamento con CA (LaFond et al 1978, Caro et al 1981, Sotaniemi et al 1983, Stellman et al 1986, Dumont et al 1989), è opportuno controllarne la potenziale insorgenza.

Dall'esame di una raccolta sistematica di dati relativi agli addetti alla preparazione di CA, sono state rilevate sintomatologie (nausea, cefalea, malessere) che si manifestavano più frequentemente di altre, ed è stato possibile individuare una discreta correlazione con l'esposizione occupazionale a CA (Valanis et al 1993). Va rilevato tuttavia che i soggetti monitorati nell'ambito di queste indagini erano particolarmente protetti grazie all'utilizzo di sistemi di protezione personale e ambientale introdotti negli USA per effetto dell'applicazione di linee guida governative (Valanis et al 1991).

Tuttavia, non è stato finora possibile stimare l'aumento del rischio in funzione della dose di farmaci somministrata, né stabilire con precisione una relazione tra l'entità dell'esposizione e la probabilità che insorgano patologie nei soggetti esposti.

2.2.2 - Effetti cancerogeni

I dati relativi all'incidenza di tumori o alla mortalità nel personale sanitario fino a oggi disponibili sono relativamente pochi.

In passato, verosimilmente a causa della limitata possibilità di cogliere i nessi causali tra esposizione (accertata o presunta sulla base della mansione lavorativa, (*job title*)), sono stati riportati in letteratura solo due casi relativi all'insorgenza di manifestazioni neoplastiche in lavoratori ospedalieri coinvolti nella manipolazione di farmaci antitumorali: un carcinoma nasofaringeo in un'infermiera (Gabriele *et al.*, 1993; caso verificatosi a Torino) e un tumore alla vescica in una farmacista (Levin *et al.*, 1993; caso verificatosi in Svezia). Se si sono verificati altri casi, in questi non è stato cercato o ravvisato il nesso causale con l'attività svolta e di conseguenza essi non sono stati riportati.

Nel complesso sono pochi gli studi di comunità sui tumori del sistema emopoietico in cui vengono valutati i fattori di rischio lavorativo per il personale infermieristico.

Fra gli studi di comunità si cita in particolare quello effettuato sui residenti di Portland (Oregon, USA), in cui sono stati seguiti per quindici anni i nuovi casi di leucemia insorti (Morton *et al.* 1984). Tra le professioni identificate mediante consultazione delle registrazioni al momento del ricovero ospedaliero, quella delle infermiere è risultata associata al maggior numero di leucemie linfatiche e non linfatiche (incidenza standardizzata di tumore [SIR] 3,1; n=17; p<0,01), dato non confermato per gli infermieri maschi.

In Finlandia, Sankila e Coll. (Sankila *et al.* 1990) hanno effettuato un controllo incrociato, consultando il Registro Tumori nazionale, tra la professione registrata al censimento di popolazione del 1970 e l'incidenza di tumori per il periodo 1971-1980,. Nel follow-up sono stati considerati soggetti di entrambi i sessi e i sanitari sono stati suddivisi in diverse categorie (medici, dentisti, infermieri psichiatrici ecc.). Come controllo è stata considerata l'incidenza di tumori nella popolazione economicamente attiva, corrispondente per sesso. Il numero totale di nuovi casi di tumore rilevato nel personale sanitario è stato 63 nei maschi e 1089 nelle donne.

In particolare, per i maschi, si è riscontrata una incidenza ridotta, ma statisticamente significativa, di tumori totali e di tumori polmonari rispetto all'atteso.

Nelle infermiere donne, di età compresa fra i 25 e i 64 anni, è stato rilevato un eccesso di leucemie (28 casi osservati, 19,3 attesi, SIR 1,5; IC 95%, 0,9-3,7) e tumori epatici (9 casi osservati, 4,6 attesi, SIR 1,92; IC 95%, 0,9-3,7). La positività sembrerebbe correlata alla qualifica, in quanto le patologie osservate non sono state rilevate tra le infermiere diplomate, ma solo tra il personale ausiliario.

Nel 1990 Skov e Coll. hanno pubblicato uno studio caso-controllo su leucemia e linfomi non Hodgkin, condotto su 21781 medici iscritti alla Società Medica danese nel periodo 1965-68 (Skov *et al.* 1990). Per ciascun caso sono stati scelti 4 controlli, appaiati per sesso e per età. Nella casistica sono stati inclusi operatori che avevano lavorato per almeno sei mesi a contatto con CA. L'incidenza di tumori è stata valutata per consultazione del Registro Tumori danese al febbraio 1989, rilevando 20 leucemie e 25 linfomi non Hodgkin. Sono risultati un Rischio Relativo (RR) di leucemia di 2,9 (IC 95%, 0,5-16) e un RR di linfomi non Hodgkin di 0,7 (IC 95%, 0,1-4,3). Lo studio ha tuttavia rilevato una instabilità della stima del rischio.

Successivamente, nel 1992, gli stessi Autori hanno pubblicato un nuovo studio su leucemie e danni riproduttivi nel personale infermieristico dei cinque più vecchi reparti di oncologia della Danimarca (Skov et al 1992). Il gruppo di studio comprendeva 1282 infermiere esposte a CA, di cui 794 incluse nello studio di *follow-up*, mentre il gruppo di controllo era costituito da 2572 infermiere di altri reparti. I nuovi casi di tumore sono stati identificati entro il 1987 attraverso procedure di *record-linkage*. Durante il periodo di osservazione, sono state introdotte misure preventive e protettive nella manipolazione dei CA, e per questo il livello espositivo è da ritenere inferiore rispetto a quello stimato negli studi precedenti. L'esposizione è stata quantificata attraverso il numero di preparazioni effettuate.

Lo studio ha rilevato un aumento del rischio di tumori ematologici (RR 5,4; IC 95%, 1,1-15,7) basato su 3 casi osservati vs. 0,3 attesi, e un aumento del rischio di leucemia (2 casi osservati, 0,2 attesi, RR 10,7; IC 95%, 1,3-38,5). Uno dei due casi di leucemia non era attribuibile alla esposizione professionale, poiché insorto come secondo tumore dopo un trattamento per morbo di Hodgkin.

Anche l'attività di farmacia può comportare esposizione a CA. Levin e Coll. nel 1993 hanno segnalato un caso di tumore vescicale in una donna farmacista (Levin et al 1993). Hansen e Olsen (Hansen et al 1994) hanno presentato nel 1994 i risultati del *follow-up* di donne con qualifica di tecniche di farmacia, attività che può comportare la preparazione e il confezionamento di medicinali e quindi di antiblastici. Dall'1.1.1970 fino al 31.12.1990, queste donne (9099 soggetti, di cui 8499 effettivamente inclusi nello studio; numero di persone per anno a partire dal terzo anno dal conseguimento del titolo: 95135 tra le assistenti di farmacia, 48669 tra le addette al banco) sono state seguite per la ricerca di nuovi casi di neoplasia attraverso il Registro Tumori danese. Nell'insieme della coorte, non suddivisa per tipo di lavoro, per la maggior parte delle sedi anatomiche è stato osservato un numero di tumori inferiore all'atteso; tuttavia si è rilevato un eccesso di tumori della pelle, con l'esclusione dei melanomi (SIR 2; IC 95%, 1,2-3,1; 16 casi tra le assistenti di farmacia; SIR 1,2; IC 95%, 0,7-2,0, basato su 18 casi osservati tra le addette al banco); un eccesso di tumori ematopoietici (16 casi osservati, SIR 1,3; IC 95%, 0,7-2,1 per entrambe le categorie di esposizione) maggiore per i linfomi non Hodgkin (5 osservati vs. verso 4 attesi, SIR 1,3) e per il melanoma multiplo (2 casi osservati, 0,8 attesi, SIR 2,8), rispetto alle leucemie (SIR 1).

Per quanto riguarda i linfomi non Hodgkin, i 5 casi osservati riguardano addette al banco per periodi maggiori di 15 anni (SIR 3,7; IC 95%, 1,2-8,9) e latenza maggiore di 20 anni. Pur essendo riferito nel testo che la suddivisione per lavoro comprendeva anche un gruppo classificabile come addetto all'industria farmaceutica, di questo gruppo non sono state fornite informazioni.

2.2.3 - Effetti teratogeni

Numerosi studi condotti su animali e su donne incinte, hanno evidenziato danni riproduttivi conseguenti all'assunzione di CA durante la gravidanza (Gilliland et al 1983, Barber et al 1981- Beeley et al 1981, Boros et al 1977, Sessink et al 1994), motivando ulteriori ricerche per individuare i possibili effetti teratogeni nel personale sanitario addetto alla manipolazione dei farmaci antiblastici.

Per diversi CA, sono disponibili dati sperimentali relativi al rischio teratogeno in pazienti trattate, in particolare durante il primo trimestre di gravidanza. Non esistono invece informazioni riguardanti un aumentato rischio neoplastico in nati da donne che erano state sottoposte a trattamento con CA, ma sono stati segnalati danni cromosomici nei neonati.

In Finlandia, nel 1985 è stato effettuato uno studio epidemiologico su una casistica di infermiere di vari reparti (anestesia, cure intensive, medicina interna, sale operatorie, pediatria, ginecologia, oncologia e pneumologia) che avevano avuto una gravidanza negli anni 1973-1979 e che erano state ricoverate per aborto spontaneo ($n=217$, controlli = 571) o avevano avuto un figlio affetto da malformazioni ($n=46$, controlli = 128). Il gruppo di controllo era costituito da infermiere che avevano avuto un figlio sano. L'entità dell'esposizione a CA durante i primi tre mesi di gravidanza è stata valutata mediante questionario informativo (Hemminki et al. 1985). L'analisi è stata effettuata utilizzando la regressione logistica per dati appaiati: è risultato un Odds Ratio (OR) inferiore all'unità (OR 0,8) per l'associazione tra aborto spontaneo ed esposizione a citostatici, ma un rischio elevato per malformazioni congenite, con una stima del rischio che aumentava al crescere del livello espositivo (OR 2,1 per manipolazione di farmaci meno di una volta la settimana, $n=11$; OR 3,7 per manipolazione di farmaci più di una volta la settimana, $n=8$). Quando si prendevano in considerazione alcuni fattori di confondimento (altre esposizioni: gas anestetici, raggi X, agenti sterilizzanti), OR risultava pari a 4,7 (IC 95%, 1,2-18,1). La correlazione tra esposizione e malformazioni congenite è dunque risultata elevata, mentre non sembrava esserci correlazione tra esposizione e aborto spontaneo.

Per approfondire questi risultati, gli stessi Autori (Selevan et al. 1985) hanno effettuato un secondo studio (1985) incrociando le informazioni sulle infermiere che erano state al lavoro tra il 1979 e il 1980 in 17 ospedali censiti nel 1979 e che avevano manipolato in un anno almeno 100 g di ciclofosfamide o 200 g di antineoplastici, con la registrazione dei ricoveri per gravidanza avvenuta tra il 1972 e il 1980 ($n=124$). Il gruppo di controllo era costituito da infermiere che avevano lavorato negli stessi ospedali, ma non erano state esposte a CA. I fattori di confondimento sono stati indagati attraverso un questionario postale (rispondenza dell'87%). OR è risultato pari a 2,3 (IC 95%, 1,2-4,4) per uso di antineoplastici, maggiore (OR 3,3) per coloro che avevano avuto aborti in precedenza. Non si è osservata alcuna correlazione con la dose, calcolata come esposizione cumulativa. Sebbene esistessero problemi di collinearità, è stato analizzato il rischio conseguente alla manipolazione di singoli farmaci, che è risultato maggiore per vincristina (OR 2,5; IC 95%, 1,1-5,4), ciclofosfamide (OR 2,7; IC 95%, 1,3-5,7) e doxorubicina (OR 4; IC 95%, 1,3-12). Nonostante non fossero disponibili informazioni precise sulle modalità operative, gli autori hanno affermato che in quegli anni l'uso di mezzi di protezione era insufficiente.

In uno studio del 1988 pubblicato da McDonald e Coll. (McDonald et al 1988), il rischio di malformazioni per la prole è risultato circa il doppio. La pubblicazione di questi dati, che denunciavano un considerevole rischio riproduttivo, ha contribuito all'adozione di misure preventive e protettive sempre più efficaci, attuate negli anni seguenti. A ciò è in parte dovuto l'alto tasso di negatività ottenuto in studi pubblicati successivamente.

Per quanto riguarda la valutazione del rischio espositivo nell'industria farmaceutica, Taskinen e Coll. (1986) hanno studiato la eventuale correlazione tra l'aumento del numero di aborti e

l'attività di produzione di CA (Taskinen et al 1986) . Consultando i registri delle dimissioni ospedaliere, delle gravidanze e degli aborti verificatisi tra il 1979 e il 1981 tra i soggetti che avevano lavorato in alcune industrie finlandesi tra il 1973 e il 1980, hanno confrontato i tassi di abortività nella popolazione generale e nelle dipendenti ospedalizzate per aborto spontaneo, utilizzando come gruppo di controllo altre dipendenti ospedalizzate per gravidanza nello stesso periodo (n=1179; 142 aborti spontanei, 10 malformazioni congenite). L'entità dell'esposizione è stata valutata mediante raccolta di informazioni fornite dal medico dell'azienda. Il tasso di abortività, presentato tuttavia solo in forma grafica, senza alcuna valutazione formale, è risultato più elevato tra le donne impiegate nell'industria farmaceutica. Lo studio ha rilevato una correlazione tra abortività ed esposizione a solventi ed estrogeni. Per quanto riguarda i CA, è stata notata una maggiore frequenza di esposizione tra i casi (3 su 41, 7,3%) rispetto ai controlli (3 su 120, 2,5%) con un OR grezzo di 2,8 (IC 95%, 0,6-14). I casi di aborto spontaneo si erano verificati in addette in particolare alla preparazione di compresse di ciclofosfamide, e in una assistente di laboratorio.

Stücker e Coll (Stücker et al 1988, Stücker et al 1990) hanno valutato il rischio di aborto in un gruppo di infermiere di età inferiore ai 40 anni, esposte a CA (addette alla somministrazione endovenosa in unità oncologiche francesi, scelte tra quelle che effettuavano almeno 10 somministrazioni settimanali); il gruppo di controllo era costituito da infermiere non esposte a CA e impiegate in reparti di medicina interna, cardiologia, endocrinologia. Tutte le partecipanti allo studio hanno compilato un questionario nel periodo 1985-1986. Su 536 infermiere, 466 hanno partecipato allo studio e, di queste, 170 sono risultate addette alla manipolazione di CA, con una media di 18,6 esposizioni per settimana e una durata media di esposizione cumulativa di 6,1 anni. Il 25% delle infermiere erano state esposte a dosi più basse poiché manipolavano CA solo occasionalmente. Nel periodo di monitoraggio, non erano ancora stati adottati sistemi di protezione ambientale né individuale, se non durante la manipolazione del metotressato. Su 496 delle 534 gravidanze verificatesi nel gruppo di studio, 106 sono terminate con aborto spontaneo (OR grezzo 1,7; IC 95%, 1,2-2,5). La stima rimaneva invariata, anche considerando i fattori di confondimento (età alla gravidanza, fumo durante la gravidanza, numero di gravidanze). Non è stata invece rilevata una correlazione tra gli aborti spontanei e l'entità dell'esposizione, valutata come durata dell'esposizione in mesi.

Nello studio di Skov e Coll. (Skov et al 1990) sono stati indagati aborti spontanei, malformazioni e peso alla nascita dei neonati; la casistica comprendeva 286 bambini nati da 1282 infermiere esposte e da 770 delle 2572 del gruppo di controllo. Gli aborti spontanei erano 18 nel gruppo di studio e 65 nel gruppo di controllo, mentre le malformazioni erano rispettivamente 16 e 43. Non è stato documentato il rischio di aborti spontanei (OR grezzo 0,8; IC 95%, 0,4-1,4) né di malformazioni (OR grezzo 1; IC 95%, 0,6-3,1), che tuttavia è risultato lievemente aumentato in funzione dell'entità dell'esposizione.

Nel 1993, Saurell-Cubizolles e Coll. (Saurell-Cubizolles et al 1993) hanno studiato la frequenza di gravidanza ectopica nelle infermiere addette alle sale operatorie di 18 ospedali parigini, facendo riferimento al periodo 1987-88 e raccogliendo dati su 374 gravidanze e 15 gravidanze ectopiche. Il gruppo di controllo era costituito da infermiere di altri reparti, appaiate per sesso, età e durata del lavoro. L'utilizzo di CA è risultato aumentare il rischio di gravidanze ectopiche (OR 10; IC 95%, 2,1-56,2).

Lo studio di Stücker e Coll. (Stücker et al 1993) ha evidenziato una tendenza alla diminuzione del peso nei neonati figli di infermiere esposte, mettendo a confronto, come nello studio precedentemente riportato (Stücker et al 1990), personale infermieristico di reparti oncologici con gruppi di non esposti.

In tempi più recenti ,Ratner, studiando l'esposizione di infermiere ad antitumorali, non trova aumento del rischio di leucemia, di nati morti, o anomalie congenite nella prole, eccezion fatta per tre casi di anomalia congenita agli occhi. Si riscontrano tuttavia rischi elevati di cancro del seno e del retto(Ratner et al 2010).

2.2.4. Effetti biologici precoci

Tra gli effetti biologici dell'esposizione a sostanze mutagene e/o cancerogene, gli effetti citogenetici nei linfociti, quali la frequenza di aberrazioni cromosomiche (AC), di scambi tra cromatidi fratelli (Sister Chromatid Exchanges: SCE), di micronuclei (MN), sono tra i più studiati e proposti per la valutazione dell'esposizione nei gruppi a rischio. In particolare, un aumento di AC può essere considerato come indicativo di aumentato rischio di tumori all'interno di un gruppo, ma non a livello individuale.

Con l'eccezione dell'esposizione professionale a sostanze leucemogene, nessuno degli indicatori proposti come indicatori di effetto può essere considerato predittivo di una patologia neoplastica. L'utilità di questi indicatori risiede essenzialmente nella possibilità di identificare, a livello di gruppo, l'esposizione ad agenti che configurano un rischio genotossico, a sua volta potenzialmente cancerogeno.

Scambi di cromatidi fratelli (SCE): nei linfociti rappresentano un indicatore citogenetico molto sensibile, usato dagli anni settanta. Il loro studio è cominciato proprio sui pazienti in trattamento con CA. Indotti acutamente, gli SCE scompaiono pochi mesi dopo il trattamento. Sono considerati più sensibili, di determinazione più rapida e semplice rispetto ad altri indicatori, ma risentono dell'influenza di vari fattori, tra cui l'età e il fumo di sigaretta.

Il meccanismo di formazione ed il significato biologico di un'aumentata frequenza di SCE è tuttora sconosciuto. Benché siano indotti da molti agenti mutageni e cancerogeni, di per sé non rappresentano un evento mutageno. Studi multicentrici epidemiologici non sono stati in grado di dimostrare un'associazione tra frequenza elevata di SCE e aumento di rischio tumori, pertanto tale indicatore non può considerarsi adatto per la valutazione del rischio.

Aberrazioni cromosomiche: le radiazioni ionizzanti e le sostanze radiomimetiche alchilanti ovvero i cancerogeni diretti, producono aberrazioni cromosomiche. Alcune di queste lesioni sono rappresentate dai cromosomi dicentrici, dalle delezioni. I primi, oggi, rappresentano il dosimetro biologico degli effetti precoci delle radiazioni ionizzanti. Un secondo tipo di AC è rappresentato da traslocazioni, inversioni; sono stabili e quindi trasmissibili, ma nella pratica sono di più difficile individuazione. Tali anomalie riflettono l'esposizione cumulativa e non si possono attribuire all'effetto genotossico di specifiche sostanze, ma possono avere se ripetutamente confermate, valore di segnale d'allerta. Anche se il test delle AC sembra essere un indicatore di effetto biologico precoce predittivo di aumento di rischio tumori, è improbabile che possa essere applicato su larga scala per i suoi costi elevati e per la necessità di disporre di personale altamente qualificato per la lettura dei preparati.

Gli studi pubblicati sulla frequenza di AC e di SCE in soggetti professionalmente esposti a CA sono numerosi e presentano risultati talvolta discordanti. Questo può essere dovuto alla diversità delle situazioni espositive studiate e a problemi metodologici. Gli studi che hanno fornito risultati positivi per aumento di AC e negativi per aumento di SCE si riferiscono a situazioni con esposizione pregressa maggiore di quella in corso per effetto dell'introduzione di misure preventive e protettive. Va comunque rilevato che gli indicatori citogenetici sono risultati negativi negli operatori che avevano sempre lavorato in condizioni protette.

2.3 - Relazioni dose-effetto e dose-risposta

In generale per ogni sostanza chimica esiste una proporzionalità diretta tra dose assunta e intensità degli effetti prodotti o tra frequenza dei soggetti con effetto e dose assunta. Per gli effetti tossici sistemici (effetti a carico di organi ed apparati) esiste una soglia di dose sotto la quale nei soggetti esposti, non compaiono effetti tossici. Per qualsiasi sostanza chimica esiste cioè una dose priva di effetti. Adottando opportune cautele nella interpretazione/estrapolazione dei risultati sperimentali, è possibile definire dei valori limite di esposizione efficaci per tutelare la salute dei lavoratori che devono maneggiare sostanze chimiche pericolose (TLV=Threshold Limit Value). Anche gli effetti tossici cancerogeni insorgono in maniera proporzionale alla dose. In gruppi di soggetti esposti a dosi diverse di sostanza cancerogena il numero (frequenza) di soggetti che contrae il tumore cresce al crescere della dose assunta. Per la comparsa degli effetti cancerogeni non esiste una dose soglia.

Per stabilire una relazione di dose effetto per alcuni dei chemioterapici più tossici nella prospettiva di giungere a stabilire livelli pragmatici di sicurezza per la manipolazione di farmaci antitumorali, sono stati svolti studi mirati (Sessink et al 1995, Sorsa and Anderson 1996).

Nel primo caso lo studio è basato sull'utilizzo di dati provenienti da 2 studi differenti fatti rispettivamente su ratto e uomo. Per la valutazione dell'esposizione professionale a Ciclofosfamide sono stati utilizzati i dati provenienti da diversi lavori (Hirst et al., 1984; Evelo et al., 1986; Sessink et al., 1992a; Sessink et al., 1992b; Sessink et al., 1993; Sessink et al., 1994a; Sessink et al., 1994d) dai quali si è desunto il valore di dose media giornaliera di 0,18 µg/die di farmaco considerando l'escreto come l'1% del totale assorbito avendo un intervallo variabile tra 0,01 e 0,53 µg. La somministrazione di 1 mg/kg_{pc} nel ratto ha portato ad una misura della ciclofosfamide escreta (nelle 24 ore) pari al 5% del totale assorbito. Così, incrociando i due studi si è calcolato un assorbimento giornaliero variabile tra 3,6 e 18 µg e un conseguente assorbimento cumulativo tra 28,8 e 144 mg (considerando 200 giorni lavorativi/anno, 40 anni lavorativi). I dati relativi all'incidenza di tumore alla vescica (nel maschio) e leucemie (in entrambi i sessi), si riferiscono ai risultati ottenuti su ratti trattati quotidianamente per cinque giorni alla settimana con ciclofosfamide (Schmahl and Habs, 1979) e riferiscono di percentuali pari a 14 e 8% rispettivamente.

Il rischio corrispondente per l'uomo è calcolato per estrapolazione assumendo che la curva dose effetto sia lineare per l'intervallo considerato. I risultati così ottenuti descrivono una casistica di 120-600 casi per milione (tumori alla vescica) e 95-475 casi per milione (leucemia in entrambi i sessi).

Lo studio su pazienti prende in considerazione i dati relativi ad insorgenza di primo tumore in seguito a trattamento con Ciclofosfamide (Baker et al., 1987) e dati relativi a leucemie indotte da trattamento con Ciclofosfamide per carcinoma ovarico (Green et al 1986). La dose cumulativa di esposizione professionale al farmaco stimata in 10 anni di lavoro è stata di 7,2-36 mg e come nel caso precedente, la valutazione del rischio di tumore si è calcolata per estrapolazione lineare dalla curva dose effetto costruita per i pazienti. Il rischio di leucemia per soggetti femminili è risultato in un intervallo di 17-100 casi per milione (la casistica proiettata su tutta la durata lavorativa risulta pari a 68-400 casi per milione) su dati relativi a secondo tumore. Il rischio di tumore alla vescica e leucemia (in ambo i sessi) su dati di primo tumore, sono rientrati in un intervallo di 15-76 casi per milione (proiezione vita lavorativa 60-304 casi per milione).

Nel secondo caso la valutazione di rischio di tumore nel personale professionalmente esposto (Sorsa, Anderson 1996) prende spunto dai dati relativi a pazienti trattati con Ciclofosfamide per linfoma non Hodgkin (Pedersen-Bjergaard et al., 1985) e da quelli relativi ai tre casi di leucemia osservati tra 333 soggetti trattati con Ciclofosfamide per Carcinoma ovarico (Greene et al., 1986). L'incidenza di leucemia era in questo caso dell'1% mentre la dose di farmaco accumulata dai pazienti si attestava intorno ai 4 g. La conseguente stima della dose assimilata per il personale esposto non superava gli 0,2 mg/anno corrispondente ad una dose giornaliera pari a 1 µg/die (200 giorni lavorativi). La proiezione sul totale dell'esperienza lavorativa equivale a circa 8 mg di ciclofosfamide che è pari allo 0,2% della dose terapeutica somministrata ai pazienti. La stima del rischio di leucemia estrapolata è di 20 casi per milione.

3. VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE PROFESSIONALE A CA

Nel personale ospedaliero l'esposizione a CA si può verificare prevalentemente per via cutanea e/o per via respiratoria.

Per quantificare l'esposizione per via inalatoria a chemioterapici antitumorali (CA), è necessario determinarne i livelli aerodispersi mediante campionatori personali e di area. A tale scopo, sono utilizzati opportuni substrati di raccolta, successivamente estratti e analizzati per la rilevazione dei principi attivi in esame. Impiegando tale procedura, è possibile valutare la presenza di CA nell'ambiente, sia durante la manipolazione dei farmaci citostatici in realtà ospedaliere sia durante le attività di produzione nelle aziende farmaceutiche (Sessink. et al 1992,1993, 1994, DeWerk Neal et al 1983, Kleinberg et al 1981, Pyy et al 1988, Sorsa et al 1988, Sorsa et al 1990, Bos et al 1998, McDiarmid et al 1986, Nygren et al 1997).

La presenza di CA nel particolato ambientale può essere determinata dalla presenza di correnti d'aria in prossimità della cappa a flusso laminare verticale (Clark et al 1981) o da un suo scorretto utilizzo, ma anche da errori procedurali nella manipolazione dei CA. Un contributo significativo all'aerodispersione di CA può inoltre derivare da carenze nella manutenzione ordinaria e/o straordinaria della cappa, con particolare riferimento alla sostituzione periodica del filtro HEPA, nonché alla sua efficienza nei confronti dei principi attivi impiegati. Al riguardo, la prevalenza degli studi riportati in letteratura si riferisce al particolato aerodisperso, mentre non sono presenti lavori che abbiano preso in considerazione il campionamento della fase vapore. Solo recentemente (Opolka et al 1998), è stata segnalata l'opportunità di rivalutare l'efficacia protettiva della cappa a flusso laminare verticale durante la manipolazione di ciclofosfamide (CP). La tensione di vapore di CP, pur molto bassa, è tale da consentire la dispersione di vapori nell'aria a temperatura ambiente. Le molecole di CP in fase vapore sarebbero molto più piccole della dimensione dei pori del filtro HEPA, e non verrebbero quindi trattenute, esponendo potenzialmente gli operatori a vapori di CP, per inalazione di aria contaminata.

In una ricerca di Stücker e Coll. (Stücker et al 1986) è stata evidenziata la presenza di elevati livelli di tioeteri urinari e di agenti mutageni nelle urine dei lavoratori che manipolavano CA senza misure protettive adeguate, mentre gli stessi tests risultavano negativi per soggetti che lavoravano in condizioni di sicurezza, a contatto con un numero limitato di farmaci (<11) e per periodi brevi (1 settimana). Confermando le osservazioni di Stücker, Valanis e Coll. (Valanis et al 1993) hanno rilevato l'insorgenza di sintomi acuti (disturbi gastro-intestinali, neurologici, sistemici) in un gruppo di farmacisti esposti a CA. Nonostante non sia stato possibile correlare con esattezza i sintomi osservati con la mansione svolta, gli stessi autori hanno concluso che la principale via di assorbimento dei CA era quella cutanea, soprattutto se non erano adottate opportune misure di sicurezza. Inoltre, l'entità dell'esposizione risultava dipendente sia dalle quantità di farmaci manipolate sia dalla durata del turno lavorativo. Le esperienze più recenti hanno confermato che, anche quando si utilizzano guanti e camici, si può verificare un assorbimento di CA per via cutanea, per esempio durante la rimozione dei guanti o le operazioni di decontaminazione; in particolare, è stata segnalata la possibilità di un contatto

cutaneo a livello del polso, che spesso rimane scoperto a causa di un non corretto utilizzo dei dispositivi di protezione individuale (DPI). Non è altresì trascurabile la permeabilità dei guanti a determinati CA: i risultati di uno studio condotto da Sessink e Coll. hanno confermato la permeabilità di CP, 5-FU e MTX attraverso guanti in lattice, evidenziando tra l'altro una contaminazione residua presente in diversi punti dell'ambiente di lavoro (Slevin et al 1984, Laidlaw et al 1984, Stoikes et al 1987, Colligan et al 1990, Sessink et al 1994,1997). Allo scopo di quantificare la presenza di farmaci antitumorali sulle superfici e sugli oggetti, nell'ambito di numerose indagini, sono stati impiegati i cosiddetti wipe tests (Sessink et al 1992, 1993, 1994, Bos et al 1998, Minoia et al 1998, Minoia et al 1999).

Infine, la contaminazione può verificarsi in seguito a eventi non sempre prevedibili (punture accidentali, rottura di fiale o flaconi, ecc.), durante lo smaltimento degli escreti dei pazienti o la pulizia delle cappe e dei locali, che espongono a rischio anche il personale della lavanderia, ausiliari, addetti al trasporto dei preparati all'esterno delle strutture, familiari e persone in visita ai pazienti.

Sulla base di quanto detto, è evidente la necessità di disporre di strategie di monitoraggio per valutare l'esposizione cutanea degli operatori. A questo scopo, i materiali che possono essere utilizzati sono gli indumenti, con particolare riferimento ai guanti, i wipe tests e, più recentemente, i pads.

Poiché gli operatori sono in genere esposti a un ampio spettro di sostanze, occorre innanzitutto individuare i principi attivi da monitorare, tenendo conto della loro eventuale azione cancerogena, dei quantitativi utilizzati, della frequenza di impiego e della eventuale disponibilità di metodi sufficientemente sensibili per il tipo di indagine che si intende condurre. Una possibile soluzione è quindi monitorare uno o più indicatori, che possono essere identificati quali CA di più frequente utilizzo. Questa procedura può risultare preferibile nella fase iniziale del processo di valutazione della misura di esposizione, in quanto consente di costituire fin da subito un'immagine complessiva delle condizioni dell'ambiente di lavoro e di indirizzare, se necessario o utile, eventuali successivi interventi di monitoraggio o altri approfondimenti di natura infrastrutturale, impiantistica, fisico-tecnica, tossicologica, clinica e addirittura organizzativa. In alternativa, è possibile prevedere il monitoraggio delle sostanze inserite nel Gruppo 1 e nei Gruppi 2A e 2B della classificazione IARC.

Anche in questo caso, occorre valutare con attenzione se i quantitativi di CA impiegati giornalmente siano tali da richiedere un'indagine estesa alle diverse matrici ambientali o limitata ad alcune di esse.

Nella letteratura scientifica relativa al monitoraggio ambientale dell'esposizione a CA nel personale ospedaliero sono stati impiegati come traccianti per la descrizione della contaminazione da CA, un numero limitato di farmaci antitumorali (prevalentemente Ciclofosfamide, Metotressato, 5-Fluorouracile, composti del Platino espressi in genere come metallo totale)

Le misure sono state dapprima effettuate secondo i criteri collaudati dell'igiene industriale classica attraverso il campionamento dell'aria ambiente, sia all'interno delle cappe di preparazione sia in termini generici nell'ambiente di lavoro su wipe tests e sui guanti.

Questo aspetto evidenzia una disponibilità limitata di metodi caratterizzati da un adeguato potere di rilevabilità, con conseguente difficoltà di identificazione delle sorgenti e delle modalità di diffusione dell'inquinamento da CA. Sono impiegati anche i pads per valutare la contaminazione di specifiche zone anatomiche dell'operatore, con particolare riferimento al torace, agli avambracci e alle gambe.

Per quanto concerne il monitoraggio dei CA aerodispersi, oltre al campionamento personale, viene effettuato anche il campionamento d'area, individuando postazioni in punti significativi dei locali. Per quanto riguarda la determinazione dei farmaci potenzialmente assorbibili attraverso i guanti, è prevista la determinazione della quota residua di CA sia sulla superficie esterna sia su quella interna. Infine, poiché uno degli obiettivi in termini di prevenzione è di limitare la diffusione dell'inquinamento da CA, si è proposto l'uso di wipe tests non solo in vari punti del locale, ma anche all'esterno, per esempio nella stanza filtro e in corridoio. Scopo di questa fase dell'indagine è ricavare, attraverso l'identificazione delle superfici caratterizzate da una più elevata contaminazione da CA, una mappatura dettagliata dell'inquinamento in atto. Nel complesso, l'esame dei dati acquisiti permetterà di considerare, nell'ambito delle procedure di organizzazione del lavoro, quali operazioni o attività non siano correttamente effettuate, e quindi di attuare gli opportuni interventi e apportare le modifiche necessarie.

Relativamente alla necessità di disporre di una strategia di monitoraggio ambientale in grado di fornire informazioni esaustive sui livelli di CA presenti nell'ambiente di lavoro, si ritiene opportuno richiamare sinteticamente alcune condizioni che si considerano imprescindibili per garantire una valutazione del rischio accurata.

1. Necessità di individuare le modalità di diffusione dei CA nell'ambiente di lavoro con identificazione delle aree caratterizzate da inquinamento più elevato.
2. Definizione delle vie di assorbimento dei CA nel personale sanitario esposto. Ci si riferisce in particolare alla necessità di caratterizzare in senso qualitativo e quantitativo la dose respiratoria, con la possibilità di differenziarla da quella cutanea.
3. Verifica dell'efficacia dei dispositivi di protezione di tipo collettivo (es. cappa a flusso laminare verticale) e individuale (semimaschera, camice, guanti, ecc.).
4. Identificazione delle modalità di trasferimento di microquantità residue di CA presenti nell'ambiente di lavoro ad altre aree contigue.

Occorre altresì premettere che, prima di effettuare l'indagine, è opportuno raccogliere dati informativi sulle attività svolte e oggetto di monitoraggio utilizzando un questionario che consenta di acquisire notizie dettagliate sull'organizzazione del lavoro, di rilevare e valutare eventuali variazioni apportate nel tempo.

3.1. Monitoraggio biologico

Nel 1979, studiando la mutagenicità delle urine, Falck e Coll. (Falck et al 1979) dimostrarono per primi l'esistenza di una esposizione potenziale delle infermiere che manipolavano chemioterapici antiblastici (CA). Negli anni seguenti, molti ricercatori hanno effettuato il monitoraggio biologico di soggetti professionalmente esposti a CA, impiegando metodi sempre più specifici e accurati. Nella maggior parte degli studi presenti in letteratura, l'analisi è limitata a uno o due farmaci, da utilizzare come indicatori per la totalità dei principi attivi

utilizzati (Venitt et al 1984, Evelo et al 1986, Hirst et al 1983-84, Sessink et al 1992,1994, Ensslin et al 1994).

Per valutare gli effetti dell'esposizione ad agenti multipli, sono stati sviluppati metodi che consentissero lo studio degli *endpoint* dei CA. Questi, a differenza delle determinazioni dirette dei farmaci o dei loro metaboliti, misurano i cambiamenti che avvengono nei siti di azione cellulari o molecolari (cromosomi, DNA) o indicatori di effetto (enzimi). Tra questi, anche i metodi relativamente ben documentati presentano alcuni limiti. In generale, data la frequente presenza di fattori di confondimento (fumo, altri farmaci), si può avere una sovrastima dell'esposizione reale e la specificità non si rivela adeguata.

La determinazione di farmaci antiblastici o di loro metaboliti nei liquidi biologici (sangue, urina, ecc.) è la tecnica elettiva per la valutazione dell'esposizione professionale a CA, ma richiede la disponibilità di metodi altamente sensibili.

Spesso, le analisi vengono effettuate per determinare 1-2 farmaci, che vengono considerati indicatori dell'esposizione a tutti i CA utilizzati. Partendo dal presupposto che questi farmaci non sono presenti in urina umana (con l'eccezione delle tracce di Platino ubiquitariamente presenti in ambiente), il riscontro di tracce di CA (in particolare se di classe 1, 2A, 2B secondo IARC) fornisce utili indicazioni sia di tipo preventivo sia per chi, come il medico competente, si occupa di sorveglianza sanitaria.

Solo recentemente si sono rese disponibili metodiche analitiche validate per la determinazione di farmaci antiblastici e loro metaboliti in urina o plasma di soggetti professionalmente esposti. Nella maggior parte degli studi le casistiche erano limitate a 14-35 soggetti. In un paio di lavori, si riportano studi condotti su un centinaio di lavoratori. La maggioranza delle analisi sono state effettuate su campioni di urina raccolte nelle 24 h o in turni di 8 h. Non si osservano comunque differenze significative nelle percentuali di positività ottenute nel corso di indagini condotte con strategie diverse. Tra i farmaci considerati, Ciclofosfamide e Ifosfamide sono senza dubbio i più studiati, ma molti autori hanno preso in considerazione anche Metotrexate, Taxolo, Doxorubicina, Epirubicina, Citarabina e Gemcitabina.

In generale, i risultati indicano che, nonostante l'introduzione delle linee guida e l'applicazione delle stesse, permane l'assorbimento di farmaci antiblastici da parte dei lavoratori addetti alla preparazione e somministrazione delle chemioterapie. Senza dubbio, si è comunque osservata una progressiva diminuzione delle percentuali di positività. Tuttavia, campioni biologici "negativi", per i quali cioè non si determinano livelli di concentrazione superiori al limite di quantificazione di specifici analiti, non significa necessariamente assenza di rischio.

Le Tabelle 3.1 e 3.2 riportano in sintesi gli studi più significativi, per entità della casistica indagata, per l'entità dei livelli di esposizione misurati e per le minime quantità di farmaco discriminabili.

Tabella 3.1 - Esito del monitoraggio biologico relativo alla misura della Ciclofosfamide in urina in alcune delle più recenti indagini.

Mansione Luogo di lavoro	% di positività	Concentrazione	Rif. Bibl.
Farmacisti (Osp.A)	3/7 (42,9%)	0,11 – 1,3 µg/L	Minoia et al., 1998
Infermieri (Osp.A)	1/9 (11,1%)	0,11 µg/L	
Farmacisti (Osp.B)	2/3 (66,7%)	0,25- 0,81 µg/L	
Infermieri (Osp.B)	4/5 (80%)	0,11 – 1,1 µg/L	
Farmacisti, Infermieri	106/1415 (7,5%)	0,05 – 0,76 µg/L	Pethran et al., 2002
Farmacisti, Infermieri	18/62 (29%)	0,05 – 10,03 µg/L	Turci et al., 2002
Farmacisti, Infermieri	0/88	<10 ng/L	Hedmer et al., 2008
Farmacisti	2/67 (3%)	0,043 – 0,079 ng/L	Connor et al., 2010
Farmacisti, Infermieri	0/86 (0%)	<20 ng/L	Turci et al., 2010
Farmacisti, Infermieri	23/41 (56%)	2,7 – 462,8 ng/24 h	Sugiura et al., 2010
Farmacisti, Infermieri	0/9 (0%)	0,4 ng/ml	Maeda et al., 2010
Farmacisti, Infermieri	0/100 (0%)	< 0.2 µg/L	Sottani et al., 2012

Tabella 3.2 - Metodi analitici pubblicati nella letteratura scientifica per la determinazione dei principali CA impiegati nelle indagini come indicatori d'esposizione nel monitoraggio biologico .

Analita	Intervallo	Tecnica	LR del metodo	Bibliografia
CP, IF	-	GC-MS	0,1 µg/l urina	Sessink et al 1992
CP	-		1 µg/l urina	Sessink et al 1993/1994
CP	0-100 ng/ml		0,25 µg/l urina	Sessink et al 1993
MTX	4-1000 ng/ml	HPLC-UV	4 µg/l urina	Mader et al 1993
MTX	0,28 µM	FPIA	4,54 µg/l urina	Sessink et al 1994
FBAL	0,060-50 µg/ml	GC-MS	60 µg/l urina	Sessink et al 1994
CP, IF	-	GC-ECD	2,5 µg/l urina	Ensslin et al 1994
Pt	-	AdV	4 ng/l urina	
Pt	-	AdV	5 ng/l urina	Nygren et al 1997
			20 ng/l sangue	
FBAL	12,7-381 µg/l	GC-MS/MS	6 µg/l urina	Bos et al 1998
TAX	5-500 ng/ml	HPLC-MS/MS	1,7 µg/l plasma	Sottani et al 1998
CP, IF	0-32 ng/ml		0,05 µg/l urina	Sottani et al 1998
CP	0-20 ng/ml	GC-MS/MS	0,1 µg/l di urina	Sannolo et al 1999
IF	0-40 ng/ml		0,5 µg/l di urina	
MTX	0,5-16 µg/l	HPLC-MS/MS	0,2 µg/l di urina	Turci et al 2000
Pt	0,5 – 3 µg/l	ICP-MS	0,01 µg/l di urina	Minoia et al 1999
FBAL	0,020 - 10 µg/ml	GC-MS	20 ng/mL	Rubino et al 2004
CP	0,02-0,4 µg/L	HPLC-MS/MS	0,01 µg/L	Sottani et al 2005
IF			0,02 µg/L	
MTX	0,4-50 µg/L	UPLC-MS/MS	0,2 µg/L di urina	Barbieri et al 2006
CP	0,08-50 µg/L		0,04 µg/L di urina	
CP	10-1250 ng (97)	GC-MS/MS	0,1 ng/mL	Fransman et al 2007
	14-45 ng (00)			
CP	-	HPLC-MS/MS	10 ng/L	Hedmer et al 2008
IF	-		30 ng/L	
CP	0,2-4 µg/L	HPLC-MS/MS	0,1 µg/L	Sottani et al 2008
IF				
EPI	0,3-4 µg/L			
DAUNO	0,3-4 µg/L	HPLC - MS/MS	0,1 µg/L	Sottani et al 2008
DOX			0,2 µg/L	
DOX	2 - 65.4 pg/µL	HPLC - FL	0,6 pg/µL	Pieri et al 2010
EPI			1,2 pg/µL	
FBAL	1 - 100 µg/L	HPLC - MS/MS	1 µg/L	Ndaw et al 2010

FPIA = fluorescence polarization immunoassay; AdV = adsorptive voltammetry.

3.2. Monitoraggio ambientale

Le tecniche di campionamento e analisi impiegate per valutare l'esposizione inalatoria o cutanea a CA forniscono una stima più o meno accurata dell'esposizione reale e ciò dipende prevalentemente dall'affidabilità delle metodiche utilizzate, che dovrebbero essere opportunamente validate. Inoltre, i dati analitici possono variare sensibilmente in funzione di numerosi fattori, che devono essere controllati secondo procedure standardizzate.

Le tecniche strumentali impiegate per la determinazione di CA in matrici ambientali variano in funzione del substrato di campionamento e delle caratteristiche del composto in esame. Per l'analisi di CP, alcuni autori hanno impiegato la cromatografia liquida con rivelatore UV (Dewerk et al 1983, McDavitt et al 1993, Pyy et al 1988, Sorsa et al 1988); Sessink e Coll. hanno fatto ricorso alla gas cromatografia accoppiata a spettrometria di massa, previa derivatizzazione dell'analita (Sessink et al 1992-1994, 1997), mentre, più recentemente, la cromatografia liquida è stata accoppiata alla spettrometria di massa a triplo quadrupolo, con significativo miglioramento della sensibilità del metodo (Minoia et al 1998-99, Sottani et al 1999).

L'analisi di 5-FU e MTX è stata in genere effettuata (Dewerk et al 1983, McDiarmid et al 1986, Hansen et al 1988, Florida et al 1999, Sessink et al 1992,1994,1997, Micoli et al 2000, Turci et al 2000) mediante cromatografia liquida con rivelatore ultravioletto (HPLC-UV). Sessink e Coll. (Sessink et al 1994) ha impiegato la FPIA (Fluorescence Polarization Immunoassay) per il monitoraggio di addetti dell'industria farmaceutica, mentre Turci e Coll. (Turci et al 2000) hanno utilizzato l'HPLC, mettendo a confronto il rivelatore ultravioletto con lo spettrometro di massa a triplo quadrupolo.

Nel caso in cui i farmaci antiblastici campionati contengano Pt, possono essere impiegate diverse tecniche, quali AdV (Adsorptive Voltammetry) (Nygren et al 1997), la spettrometria di assorbimento con atomizzazione elettrotermica (ETA-AAS), la spettrometria di emissione a plasma accoppiata induttivamente (ICP-AES) o la spettrometria di massa con sorgente a plasma induttivo (ICP-MS) (Minoia et al 1999).

In Tabella 4.3 si riportano le tecniche strumentali utilizzate in alcuni tra i lavori più significativi reperiti in letteratura nonché le percentuali di positività di contaminazione su superfici di lavoro nelle indagini di monitoraggio ambientale più recentemente effettuate (Tab.4.4)

Tabella 3.3 - Metodi analitici pubblicati nella letteratura scientifica per la determinazione dei principali CA impiegati come traccianti della contaminazione e della esposizione nel monitoraggio ambientale .

Riferimento bibliografico	Analita	Tecnica analitica	LR del metodo
Sessink et al (1992, 1993, 1994-1997)	CP	GC-MS	0,1 µg/l acqua (usata per solubilizzare gli analiti)
	IF	GC-MS	
	5-FU	HPLC-UV	7 µg/l acqua (usata per solubilizzare gli analiti)
	MTX	HPLC-UV	60 µg/l acqua (usata per solubilizzare gli analiti)
Sessink et al (1994)	MTX	FPIA	0,01 µM
Minoia et al 1998	CP	HPLC-MS/MS	2,3 ng/ml
	IF	HPLC-MS/MS	
Floridia et al 1999	5-FU	HPLC-UV	41,51 ng/ml
	CYA	HPLC-UV	32 ng/ml
	GCA	HPLC-UV	49,82 ng/ml
Floridia et al 1999	MTX	HPLC-UV	47 ng/ml
Connor et al 1999	CP	GC-MS/MS	0,1 ng/ml di estratto
	IF	GC-MS/MS	
	5-FU	HPLC-UV	20 ng/ml di estratto
Turci et al 2000	MTX	HPLC-MS/MS	15 ng/mL
Sottani et al 2000	TAX	HPLC-MS/MS	20 ng/mL
Micoli et al 2000	5-FU	HPLC-UV	30 ng/mL
Minoia et al 1999	Pt	ICP-MS	2 ng/mL
Hedmer et al 2004	CP	HPLC-MS/MS	0,02 ng/mL
Schultz et al 2005	CP	GC-MS/MS	0,1 ng/mL NaOH
Crauste-Mancient 2005	CP	GC-MS/MS	0,1 ng/mL
	IF	GC-MS/MS	0,1 ng/mL
	5FU	HPLC-UV	10 ng/mL
	MTX	HPLC-UV	20 ng/mL
Sabatini et al 2005	CP	HPLC-MS/MS	1,1 µg/L
	MTX		33,3 µg/L
	5FU		
Roberts et al 2006	5FU	HPLC-UV	0,2 µg/mL
	DOX	HPLC-UV	0,25 µg/mL
	CP	HPLC-UV	2,5 µg/mL

segue Tabella 3.3

Riferimento bibliografico	Analita	Tecnica analitica	LR del metodo
Sottani et al 2007	GCA	HPLC-MS/MS	12,5 ng/wipe
	TAX		
	CP		6.25 ng/wipe
	IF		6.25 ng/wipe
Yoshida et al 2008	CP	GC-MS	6 ng/wipe
Castiglia et al 2008	CP	GC-MS/MS	0,012 µg/dm ²
	IF	GC-MS/MS	0,060 µg/dm ²
	5FU	HPLC-UV	0,440 µg/dm ²
Touzin et al 2009	CP	UPLC-MS/MS	0,042 ng/mL
	IF	UPLC-MS/MS	0,041 ng/mL
Pretty et al 2010	CP	HPLC-MS/MS	1,0 ng/mL
	IF		1,0 ng/mL
	TAX		0,7 ng/mL
	DOXO		2,0 ng/mL
	5FU		0,6 ng/mL
Sessink et al 2010	CP	GC-MS/MS	0,1 ng/mL
Sessink et al 2010	IF	GC-MS/MS	0,1 ng/mL
	5FU	HPLC-UV	20 ng/mL
Yoshida et al 2011	GEM	HPLC-UV	1 µg/wipe
	5FU	HPLC-UV	
	PT	ICP-MS	10 ng/wipe
Fabrizi et al 2011	Ara-C	DESI MS	2,5 ng/dm ²
	CP		
	DAC		
	GCA		5 ng/dm ²
	MTX		6 ng/dm ²
	VCR		5 ng/dm ²

Tabella 3.4 - Percentuali di positività di campioni di monitoraggio ambientale relativi alla contaminazione di superfici di lavoro da Ciclofosfamide e relativi intervalli di concentrazione.

Luogo di lavoro	% di positività	Intervallo di concentrazione	Rif.
Farmacia ospedaliera	maggio 2003: 4/4 (100%)	0,01-0,03 ng/cm ²	Shulz et al., 2005
	ottobre 2003: 0/2 (0%)	<0,01 ng/cm ²	
Farmacia ospedaliera	324/504 (95%)	0-35,72 ng/cm ²	Harrison et al., 2006
Farmacia ospedaliera	0 -100% (n tot = 104)	<0,05 – 5700 pg/cm ²	Hedmer et al., 2008
D.H. A	29-100% (n tot = 77)	<0,05 -59 pg/cm ²	
D.H. B	57-100% (n tot = 84)	<0,05 – 60 pg/cm ²	
D.H. C	86-100% (n tot = 70)	<0,05 -3800 pg/cm ²	
Farmacia ospedaliera	3,8-55,7%	<0,020 - >1 µg/dm ²	Castiglia et al., 2008
Farmacia ospedaliera	127/127 (100%)	0,0095 – 27 ng/cm ²	Yoshida et al., 2009
	102/136 (75%) usando PhaSeal®	<LOQ – 4,4 ng/cm ²	
Farmacia ospedaliera	72/133 (54%)	0,00076-3,5 ng/cm ²	Touzin et al., 2009
Farmacia ospedaliera 1	0-100%	<62,5 – 98000 pg/cm ²	Sottani et al., 2010
Farmacia ospedaliera 2	50-100%	<62,5 – 122900 pg/cm ²	
Farmacia ospedaliera 3	0-100%	<62,5-81204 pg/cm ²	
Farmacia ospedaliera 4	34-100%	<62,5-135051 pg/cm ²	
Farmacia ospedaliera 5	12-100%	<62,5-690004 pg/cm ²	
Reparto 1 (prep. e somm.)	9/9 (100%)	0,01-4,82 ng/cm ²	Sugiura et al., 2010
Reparto 2 (prep. e somm.)	6/7 (85,7%)	<LOQ-7,18 ng/cm ²	
Osp.1A (prep.)	3/8 (37,5%)	media: 0,79 ng/cm ²	Connor et al., 2010
Osp. 1B (prep.)	7/7 (100%)	media: 1,42 ng/cm ²	
Osp. 2A (prep.)	9/9 (100%)	media: 16,0 ng/cm ²	
Osp. 2B (prep.)	9/10 (90%)	media: 34,5 ng/cm ²	
Osp. 3A (prep.)	non indicate	media: 0,47 ng/cm ²	Connor et al., 2010
Osp. 3B (prep.)	non indicata	media: 0,07 ng/cm ²	
22 ospedali (USA) superficie sotto cappa	senza Phaseal® 78%	<0,01-17,19 ng/cm ²	Sessink et al., 2010
	con Phaseal® 21%	<0,01-5,41 ng/cm ²	

NotaBene:

D.H. (A,B,C): *Day Hospital*

Phaseal: dispositivo di sicurezza per le cui caratteristiche si rimanda al paragrafo 4.2.4

4. ASPETTI NORMATIVI

Fin dall'inizio degli anni '70, l'esposizione a CA è stata riconosciuta un potenziale rischio per gli operatori sanitari: numerosi studi hanno evidenziato infatti, un aumento dei livelli di attività mutagena nelle urine di personale addetto alla preparazione e somministrazione di CA (Anderson et al 1982, Bos et al 1982, Caudell et al 1988, Falck et al 1979, Kolmodin-Hedman et al 1983, Ng 1970, Nguyen et al 1982, Rogers 1987, Stucker et al 1986). Anche se i dati disponibili non consentivano (e tuttora non consentono) di stabilire una relazione tra l'esposizione professionale a CA e l'insorgenza di effetti avversi nel personale sanitario di forza tale da condurre all'emanazione di criteri di prevenzione basati sull'adozione di valori limite, gli Enti preposti alla prevenzione dei rischi lavorativi furono sollecitati ad elaborare procedure per il contenimento del rischio di esposizione a farmaci antitumorali. Tutto ciò non solo a beneficio dell'ambito ospedaliero ma anche nei trattamenti ambulatoriali, che rappresentano, in alcuni vasti Paesi, la principale opzione di trattamento (American Society of Hospital Pharmacists 1985, Clinical oncological society of Australia 1983, Council of Scientific Affairs 1985, Harrison 1981, Stolar et al 1983, U.S. Department of Labor Occupational Safety and Health Administration 1986, Zimmerman et al 1981).

Secondo la International Agency for Research on Cancer, per almeno 9 farmaci citostatici (agenti alchilanti), esiste "sufficiente evidenza di cancerogenicità nell'uomo" (Gruppo1). Questa classificazione si basa sui risultati di studi epidemiologici che hanno mostrato l'insorgenza di "secondo" tumore nei pazienti sottoposti a chemioterapia e di "primi" tumori in soggetti trattati con questi farmaci per la cura di patologie non tumorali (IARC Mono 1975-1982, IARC Mono 1987-1990).

Alla luce di queste considerazioni, alcuni organismi internazionali e nazionali preposti alla sicurezza dei lavoratori, hanno stilato documenti atti a fornire precise indicazioni per la riduzione del rischio durante le fasi di manipolazione dei chemioterapici antitumorali.

In generale le linee guida prevedono la valutazione periodica dell'esposizione, l'utilizzo di dispositivi di protezione collettiva e individuale (DPI), l'effettuazione della sorveglianza sanitaria e di programmi di istruzione, formazione e informazione atti a garantire i più bassi livelli espositivi possibili.

4.1. Linee Guida in ambito internazionale

Il primo e più completo testo riconosciuto a livello mondiale è quello elaborato nel Gennaio 1986 dall'Occupational Safety and Health Administration (OSHA), organo del Dipartimento del Lavoro statunitense (U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration 1984-86-95). L'OSHA redige le prime LG vere e proprie, individuando due elementi essenziali: l'informazione e la formazione di tutto il personale coinvolto nella manipolazione dei CA e l'impiego di cappe a flusso laminare di classe II. Questo documento contiene una sintesi dei rischi connessi con la manipolazione dei CA (effetti avversi a breve e lungo termine), una lista delle procedure tecnico-operative e dei dispositivi necessari per il contenimento dell'esposizione e un elenco dei farmaci in uso.

Nel 1995 una versione aggiornata e corretta delle LG diventa un punto di riferimento per le normative di tutto il mondo. Essa prende in considerazione un maggior numero di farmaci e

una descrizione più dettagliata dei dispositivi di protezione individuale e collettiva in particolare dei tipi di cappe consigliati (U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration 1995).

Attualmente, il documento più esauriente e aggiornato è il NIOSH Alert del 2004 (Preventing Occupational Exposures to Antineoplastic and Other Hazardous Drugs in Health Care Settings), in continuo aggiornamento (<http://www.cdc.gov/niosh/topics/antineoplastic/pubs.html#b>).

4.2. La normativa in Italia

Per quanto concerne la sicurezza nel luogo di lavoro, la normativa italiana fa riferimento al Decreto Legislativo n. 81 del 9 aprile 2008, che ha sostituito il D.Lgs. 626/94, e alle successive integrazioni e modifiche (Decreto Legislativo n. 242 del 19.03.1996. Modifiche ed integrazioni al decreto legislativo 19 settembre 1994, n. 626; Decreto Legislativo n. 626 del 19.09.1994). Tuttavia, nonostante numerosi chemioterapici antitumorali siano stati classificati da autorevoli organismi internazionali cancerogeni o “probabilmente cancerogeni”, tali sostanze non sono incluse nell’allegato VIII al Titolo VII del D. Lgs. 626, “ protezione da agenti cancerogeni” (l’attuale Decreto Legislativo 2 febbraio 2002, n. 25, "Attuazione della direttiva 98/24/CE sulla protezione della salute e della sicurezza dei lavoratori contro i rischi derivanti da agenti chimici durante il lavoro"). Infatti, trattandosi di preparati farmaceutici, ai CA non sono attribuibili le frasi di rischio R45, “ può provocare il cancro”, e R49, “ può provocare il cancro per inalazione”.

Nel Febbraio 1995, la Commissione Oncologica Nazionale ha conferito all’Istituto Superiore per la Prevenzione e Sicurezza sul Lavoro (ISPESL), l’incarico di coordinare un gruppo di lavoro per lo studio della “prevenzione dei rischi derivanti dall’uso di chemioterapici antitumorali in ambiente sanitario”.

Il 21 Gennaio 1997 la stessa Commissione approva il testo definitivo delle “Linee Guida per la sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antitumorali in ambiente sanitario”, elaborato dal gruppo di lavoro dell’ISPESL (Linee guida per la sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antitumorali in ambiente sanitario (1997), Documento approvato dalla Commissione Oncologica Nazionale, 21.01.1997). Il 7 Ottobre 1999 il testo viene pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale come PROVVEDIMENTO 5 Agosto 1999 (Provvedimento 5 agosto 1999. Documento di linee-guida per la sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antitumorali in ambiente sanitario (G.U. n. 236 del 7.10.1999) collocando tra gli obiettivi del Piano Sanitario Nazionale 1998-2000 gli “interventi atti a migliorare la sicurezza delle strutture sanitarie pubbliche e private, nel rispetto delle disposizioni di prevenzione previste dai Decreti legislativi 19 Settembre 1994, n. 626 e 19 Marzo 1996, n. 242”, in vigore in quell’anno. Al fine di ottemperare a quanto disposto le aziende sanitarie devono:

- Predisporre adeguati locali per la manipolazione;
- Fornire mezzi protettivi ambientali personali;
- Effettuare la identificazione del personale;
- Preparare un regolamento predisposto dal Direttore Generale che comprenda le procedure di lavoro da affiggere nei locali in cui avviene la manipolazione dei farmaci;

- Programmare attività di informazione e formazione e stilare manuali in cui siano codificate in modo chiaro e preciso le procedure da adottare;
- Nominare il medico competente ed il Responsabile del Servizio di Prevenzione e Protezione, cui demandare la valutazione del rischio e i programmi di sorveglianza sanitaria;
- Istituire un registro degli esposti.

L'ultimo atto normativo che raccoglie e completa i precedenti è il "Decreto Legislativo 9 Aprile 2008, n. 81 Testo Unico sulla Salute e Sicurezza sul Lavoro, Attuazione dell'articolo 1 della Legge 3 Agosto 2007, n. 123, in materia di tutela della salute e della sicurezza nei luoghi di lavoro. Pubblicato sul Supplemento Ordinario n. 108/L alla Gazzetta Ufficiale n. 101 del 30 Aprile 2008.

Gli aspetti chiave, già anticipati dal Provvedimento del 5 Agosto 1999 e ripresi poi dal testo unico, sono senz'altro quelli concernenti la necessità di adibire locali specifici con caratteristiche determinate per la preparazione dei farmaci antitumorali (definizione di nuove unità strutturali centralizzate UFA Unità Farmaci Antitumorali), l'obbligo dell'utilizzo di dispositivi di protezione collettiva ed individuale adeguati alla pericolosità delle sostanze manipolate e la necessità di un addestramento specifico e periodico che garantisca nel contempo continua e sempre maggiore efficienza e tutela del personale addetto.

4.2.1. Centralizzazione dei locali e delle attività

L'Unità di Manipolazione Chemioterapici Antitumorali (U.Ma.C.A.) o Unità Farmaci Antitumorali (U.F.A.), deve essere:

- Centralizzata, per ridurre al minimo il numero degli addetti esposti e impedire così lo svolgimento senza controllo di attività a rischio, e permettere nel contempo un risparmio economico;
- Isolata, in modo da risultare circoscritta e chiaramente identificabile, nell'ambito dell'ambiente sanitario;
- Chiusa, per garantire un agevole e rapido recupero dei materiali smaltiti e per soddisfare i criteri di protezione e prevenzione ambientale;
- Protetta, per consentire l'accesso al solo personale sanitario autorizzato;
- Segnalata attraverso appositi segnali di rischio .

"Il personale della Unità Farmaci Antitumorali dovrà essere costituito da Medici preferibilmente Oncologi Medici o Ematologi, Farmacisti, Infermieri, Tecnici di Farmacia o di Laboratorio, Ausiliari, Manutentori della Cappe e Addetti alle pulizie. Dovrà essere opportunamente munito di cartellino di identificazione recante il simbolo di sicurezza. Sarà in tal modo soddisfatto il criterio di protezione dei lavoratori che non sono specificamente addetti a queste attività.

Tutto il personale dovrà partecipare ad attività periodiche di formazione ed informazione e dovrà essere sottoposto a programmi di sorveglianza sanitaria."

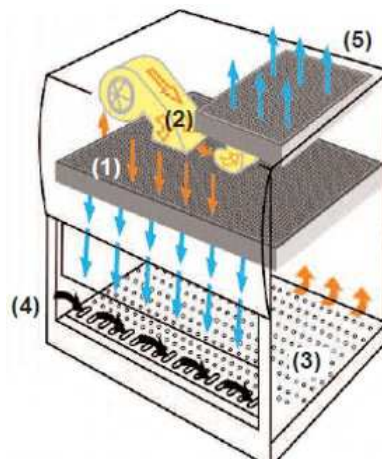
Compito della Unità Farmaci Antitumorali è inoltre garantire la sterilità delle preparazioni e la sicurezza dei pazienti cui sono somministrate attraverso una serie di controlli di qualità.

4.2.2. Caratterizzazione dei luoghi di lavoro

L'accesso ai luoghi di immagazzinamento, preparazione e somministrazione dei farmaci antiblastici deve essere riservato esclusivamente al personale autorizzato dal responsabile dell'unità operativa o di modulo. Sulle porte d'ingresso devono essere ben visibili cartelli segnalanti lo specifico rischio chimico e biologico e le limitazioni per il personale.

La preparazione dei farmaci antiblastici deve avvenire in un'area appartata e preferibilmente centralizzata, chiaramente segnalata con cartelli di divieto di accesso al personale non autorizzato.

Per isolare maggiormente la stanza in cui si manipolano i farmaci, dagli altri ambienti, è raccomandata la presenza di un locale "filtro", dove saranno conservati, in armadi dedicati e chiusi a chiave, i dispositivi di protezione individuale (DPI) e l'equipaggiamento necessario in caso di sversamenti accidentali.



I locali dedicati alla preparazione dei farmaci antineoplastici devono essere sufficientemente ampi per consentire un agevole svolgimento delle operazioni (è consigliata una superficie minima di 16 m², che comprenda la cappa aspirante, un banco d'appoggio, un armadio e un box di decontaminazione, qualora non fosse disponibile la stanza filtro); inoltre, il pavimento e le pareti devono essere in materiale plastico non poroso e facilmente lavabile (es. PVC elettrosaldato), e tali da non permettere la penetrazione di polveri e/o liquidi in prossimità degli angoli. Nel locale di preparazione non devono essere presenti flussi d'aria turbolenti che potrebbero interferire con i dispositivi di sicurezza, vanificando le misure preventive.

Nella stanza devono essere installati un pulsante per segnalare le emergenze e un interfono a viva voce, evitando l'uso del telefono tradizionale, facilmente contaminabile.

Inoltre, per evitare possibili contaminazioni dell'ambiente esterno, è opportuno mantenere in depressione l'area di lavoro, il cui sistema di condizionamento deve essere indipendente dall'impianto centrale. L'aria in ingresso al locale deve essere filtrata attraverso un filtro HEPA (high efficiency particulate airfilter), del quale sia assicurata la corretta manutenzione. Al fine di mantenere il locale in depressione, si raccomanda che le porte d'accesso siano a battente, con apertura verso l'esterno.

4.2.3. Sistemi di aerazione

Il sistema di aspirazione controllata (cappa aspirante) merita senz'altro un approfondimento specifico. L'importanza degli strumenti atti a contenere la disseminazione dei farmaci durante la preparazione era già stata intuita a metà degli anni ottanta, tanto che alla formulazione delle linee guida OSHA seguì una serie di studi atti a verificarne l'effettiva praticabilità ed efficacia, soprattutto in funzione dell'introduzione di cappe a flusso laminare verticale di classe II come banchi di preparazione per le dosi infusionali di CA (Christensen, C.J. 1990, Gregoire, R.E. et al 1987, Mayer et al 1992, Valanis et al 1990-1992).

Una cappa di sicurezza biologica classe II è una cappa ventilata aperta frontalmente progettata per la protezione dell'operatore, dei prodotti al suo interno e dell'ambiente circostante. È

caratterizzata da un flusso d'aria in ingresso e con filtrazione sia dell'aria aspirata sia di quella espulsa: il flusso laminare, proveniente dal sovrastante filtro HEPA, scende perpendicolarmente al piano di lavoro evitando di investire l'operatore, il sistema cappa è in depressione rispetto all'esterno del locale, l'aria espulsa deve essere filtrata da un secondo filtro HEPA e, se ricircolata nello stesso locale, da un filtro supplementare a carbone attivo posto a valle del filtro HEPA, per trattenere eventuali frazioni gassose. Naturalmente nell'utilizzo per preparazioni chemioterapiche sarebbe fortemente consigliabile evitare il ricircolo dell'aria all'interno del locale a prescindere dai filtri impiegati.

L'aria decontaminata dal filtro assoluto (1) scende con flusso laminare sull'area di lavoro, ne attraversa il piano (3), si miscela con l'aria esterna, che penetra nella cabina attraverso l'apertura frontale, nella zona anteriore del piano di lavoro (4).

L'aria contaminata viene aspirata dai motoventilatori posti nella parte superiore della cabina e per circa il 70% viene nuovamente inviata nella zona di lavoro dopo filtrazione assoluta mentre il restante 30% viene o semplicemente espulso all'esterno, oppure espulso previa filtrazione assoluta. La quantità di aria espulsa (5) viene reintegrata con una uguale quantità di aria ambiente aspirata attraverso l'apertura frontale (4), generando una barriera di protezione dell'operatore.

Come si intuisce dal principio di funzionamento, maggiore è l'aria non ricircolata, maggiore sarà la richiesta del sistema di aria esterna, più grande sarà la barriera a protezione dell'operatore.

4.2.4. Dispositivi di sicurezza per il contenimento del rischio

Recentemente sono stati introdotti sul mercato dispositivi che semplificano la manipolazione dei farmaci antiblastici, minimizzando la possibilità che si verifichino versamenti e spruzzi e assicurando la sterilità del prodotto. Il più noto fra questi è il Phaseal®, distribuito sul mercato dal 2000 dalla Carmel Pharma. Il sistema è costituito di tre componenti:

- *Injector*, la siringa, che lavora con una doppia membrana che crea connessioni "pulite", cioè senza rischio di sversamenti, con tutte le altre componenti del sistema;
- *Protector*, il *vial*, che usa una camera a espansione a tenuta per mantenere la pressione neutrale durante la ricostituzione del farmaco;
- *Connector*, dispositivo che connette ai flaconi o alle sacche.



L'utilizzo di questi dispositivi ha notevolmente contribuito alla riduzione della contaminazione ambientale e conseguentemente, dei livelli di esposizione attesa negli operatori. L'uso di tali sistemi chiusi per la ricostituzione dei farmaci è fortemente consigliato dalle principali linee-guida nazionali e internazionali.

5. SCOPO DEL LAVORO

L'attività di monitoraggio ambientale di CA nelle strutture ospedaliere, effettuata negli ultimi 20 anni dal LaTMA (Laboratorio di Tossicologia e Metabolomica Analitica) della Medicina del Lavoro dell'Ospedale San Paolo di Milano, nella quale questa tesi di dottorato è stata svolta, si colloca nel delicato quanto attuale contesto della valutazione e gestione del rischio in ambienti di lavoro per i quali l'applicazione delle strategie di indagine e di valutazione del rischio emerse e formulate nella storia centenaria dell'Igiene Industriale, non risulta ancora né condivisa né attuata in modo sistematico. Come emerge dalla ricerca bibliografica sistematica svolta, alla disseminazione sul territorio nazionale delle strutture di trattamento dei pazienti oncologici non sembra essersi sviluppata parallelamente un'altrettanto capillare attività di monitoraggio igienistico e di valutazione del rischio tossicologico basata su misure di monitoraggio ambientale.

Questa tesi descrive il lavoro svolto sull'argomento e rivolto ai seguenti obiettivi:

1. stabilire un protocollo per la verifica igienistica della salubrità degli ambienti di lavoro ospedalieri nei quali vengono preparate le dosi dei farmaci antitumorali individualizzate per il trattamento dei singoli pazienti.
2. verificare, attraverso l'applicazione del protocollo a numerose realtà ospedaliere, in particolare nell'ambito del sistema sanitario regionale lombardo, quale è stata nel corso del tempo la potenziale esposizione del personale sanitario addetto ad alcuni tra i più diffusi farmaci antitumorali;
3. stabilire criteri oggettivi per la valutazione dell'efficacia delle misure infrastrutturali ed organizzative previste dalla normativa nel ridurre la potenziale esposizione;
4. osservare l'effetto dell'introduzione della normativa di protezione dei lavoratori e della sua graduale implementazione nelle diverse realtà sui livelli di potenziale esposizione e quale sia attualmente lo stato dell'arte, a oltre 15 anni dall'inizio del processo;
5. utilizzare un approccio sistematico che consenta di confrontare realtà ospedaliere differenti nella valutazione dell'esposizione del personale addetto a farmaci antitumorali.

L'obiettivo finale è quello di fornire un approccio igienistico alternativo a quello tradizionalmente impiegato per descrivere i livelli di contaminazione di farmaci antitumorali in strutture ospedaliere, che consenta di definire sinteticamente il grado di efficienza di un'unità di preparazione/somministrazione farmaci, usando criteri di valutazione desunti dalla ventennale esperienza del laboratorio LaTMA in questo ambito. Il tentativo è quello di superare l'incertezza generata dall'osservazione del principio ALARA, per meglio definire i contorni di intervalli di contaminazione che possano essere ragionevolmente ritenuti tecnicamente e proceduralmente i migliori e rappresentativi di un rischio molto basso in termini di esposizione per il personale professionalmente esposto.

6. MATERIALI E METODI

APPROCCIO METODOLOGICO: STRATEGIE DI MONITORAGGIO

Uno degli obbiettivi del presente lavoro è quello di dare una rigorosa puntualizzazione dei criteri e delle tecniche di campionamento che fissano gli standard qualitativi del monitoraggio ambientale, con particolare riferimento alla contaminazione delle superfici. L'operato del LaTMA negli ultimi quindici anni in questo ambito, ci permette di mettere a fuoco quali siano le procedure e le strategie più efficaci che sottendono ad indagini di questo tipo.

6.1. Campionamento

6.1.1. Attività preliminari

Gli obbiettivi del sopralluogo conoscitivo ad opera del personale LaTMA sono: approfondire scopi e metodi dell'indagine con i referenti della struttura investigata, valutare le aree potenzialmente a rischio, attraverso acquisizione di documentazione fotografica e contestuale planimetria dei locali oggetto della campagna, acquisire informazioni pertinenti riguardo gli aspetti organizzativi dell'attività svolta, con particolare attenzione all'unità farmaci antitumorali e ai locali per la somministrazione delle terapie, raccolta della documentazione relativa alla movimentazione dei farmaci antitumorali impiegati nell'ultimo mese/2mesi di attività. Il giorno in cui effettuare il campionamento, salvo diverse esigenze, viene fissato al termine della settimana lavorativa (Venerdì) perché la contaminazione presente sia indice più veritiero possibile del carico settimanale di lavoro.

6.1.2. Scelta dei traccianti

Natura e quantità dei CA preparati nei due mesi precedenti il campionamento, debitamente riportate in tabelle a corredo delle relazioni relative alle singole realtà esaminate, consentono in prima istanza di cogliere eventuali significative periodicità lavorative, conseguentemente di individuare quali, tra i farmaci impiegati, possano essere assunti a traccianti sintetici della contaminazione delle superfici dei locali di lavoro, e quindi da ricercare e misurare nei campioni raccolti. Metodi analitici messi a punto dal laboratorio e affinati in quindici anni di attività, sono stati efficacemente utilizzati per la descrizione della contaminazione di strutture ospedaliere tra loro eterogenee ma spesso con comune impiego di alcuni CA. La simultanea determinazione di tre nucleoside analoghi è risultata spesso più che sufficiente per render conto della contaminazione prodotta da più del 50% del totale di CA manipolati nelle strutture investigate. Il 5 Fluorouracile la Gemcitabina e la Citarabina sono alcuni dei farmaci antitumorali più utilizzati nella terapia contro tumori solidi ed ematologici. A titolo di esempio si riportano i quantitativi di farmaci manipolati da 8 diverse strutture investigate nel medesimo periodo:

Tabella 6.1 - Quantità in grammi di ciascun farmaco riferite ai 30 giorni di lavoro immediatamente precedenti al prelievo effettuato dal personale LaTMA.

Ogni lettera individua una specifica struttura ospedaliera. I campionamenti si riferiscono ad una campagna effettuata nell'anno 2007

FARMACI	Q.tà (g)	Q.tà (g)	Q.tà (g)	Q.tà (g)	Q.tà (g)	Q.tà (g)	Q.tà (g)	Q.tà (g)	Q.tà tot (g)	%
	A	B	C	D	E	F	G	H		
5-FLUOROURACILE	204	135,0	110,1	150,0	33,5	71,6	49,8	135,0	889	27,0
GEMCITABINA	34	97,0	272,5	29,5	104,9	45,7	3,0	27,8	614	18,7
CITARABINA	0	0,0	746,0	0,0	387,4	0,0	0,0	0,0	1133	34,5
CICLOFOSFAMIDE	23	59,0	0,4	44,0	0,0	2,6	0,9	16,0	146	4,4
IFOSFAMIDE	0	20,0	12,6	0,0	16,0	0,0	0,0	0,0	49	1,5
ALTRI	16,1	54,6	228,1	43	69,2	11,9	6,8	26,0	456	13,9
TOT. FARMACI UTILIZZATI	277,1	365,6	1369,6	266,5	611,0	131,8	60,5	204,8	3286,9	100,0
TOT PARZ. 5-FLU+CIT+GEM	238,0	232,0	1128,6	179,5	525,8	117,3	52,8	162,8	2636,7	80,2
%	85,9	63,5	82,4	67,4	86,1	89,0	87,3	79,5	80,2	80,2

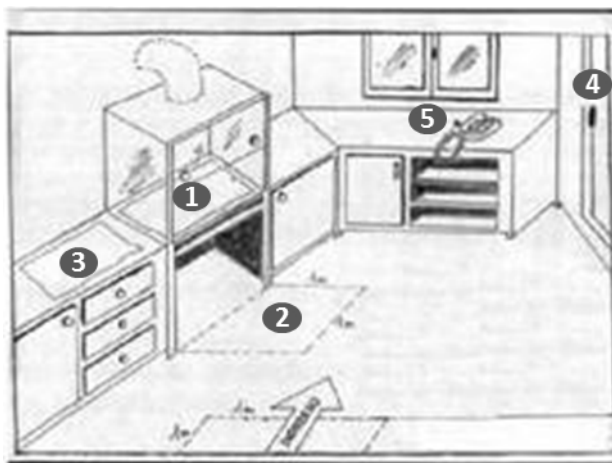
Il riferimento ai farmaci impiegati nel mese immediatamente precedente il giorno di campionamento consente di valutare quantità inter ed intra struttura dove emerge la preponderanza nell'uso dei glucoside analoghi. In molti casi i tre farmaci rappresentano l'80% e più del totale dei farmaci manipolati. Come criterio generale la scelta di uno o più traccianti può ritenersi ragionevolmente adeguata nel descrivere la contaminazione di una certa area, quando la somma di questi rende conto di più della metà del totale impiegato.

6.1.3. Tecniche di campionamento

La misura della contaminazione da farmaci antineoplastici nelle strutture apposite, è eseguita attraverso il campionamento delle superfici di lavoro mediante detersione manuale (wipe sampling). La tecnica del wipe sampling utilizzata dal LaTMA, già pubblicata in letteratura scientifica (Basilico et al 2000, Floridia et al 2000, Rubino et al 2000) fa uso di garze di cotone di dimensioni 10x10 cm, opportunamente imbevute di semplice acqua bi distillata Milli-Q (Millipore Corporation) in aliquote di 20-50 mL, a seconda che si tratti di superfici <0.5 m² o > 0.5 m² rispettivamente. Il campione viene successivamente strizzato all'interno di una siringa da 100 mL e purificato con un filtro a porosità di 0.4 µm pronto per l'analisi strumentale.

L'indagine comporta la misura della contaminazione da CA presente sulle superfici più rappresentative di ciascun locale. Il criterio-guida per la scelta delle superfici da monitorare è dettato dall'ipotesi di lavoro già verificata in casi analoghi (Basilico et al 2000, Floridia et al 1999)- basata sul presupposto che la contaminazione si disperda nel locale a partire da un "punto preparazione" delle soluzioni infusionali. Il "punto sorgente" in genere corrisponde alla cappa nella quale vengono preparate le soluzioni. Per questo motivo gli spazi normalmente oggetto del monitoraggio sono quelli adibiti alla preparazione e alla somministrazione farmaci antitumorali. Lo studio delle planimetrie e la visione diretta dei locali d'interesse, consentono di individuare le zone di lavoro sensibili e permettono di mantenere una certa omogeneità di distribuzione dei punti di campionamento. Prendendo in considerazione un generico locale di

preparazione farmaci, si possono individuare delle posizioni standard di campionamento di seguito illustrate:



Locale Unità farmaci antitumorali

1. Superfici interne delle cappe
2. Superfici pavimenti antistanti le cappe
3. Superfici banconi
4. Superfici ante e maniglie di frigoriferi
5. Superfici scrivanie apparecchi telefonici

Locale somministrazione terapie:

1. Pompe di infusione
2. Pavimenti antistanti poltrone di somm.
3. Pavimento vicino a letti di degenza
4. Pavimento servizi ig. in stanze di degenza

Figura 6.1 - Schema generico di locale preparazione farmaci

Le porzioni di superficie valutate volta per volta, vengono accuratamente misurate e variano da un minimo di 0,1 m² ad un massimo di 1 m². La disomogeneità delle strutture investigate fa sì che le strategie di campionamento mantengano una certa flessibilità esecutiva. La variabilità dell'estensione del locale preparazione farmaci è tale per cui in alcuni casi è opportuno suddividere l'area in zone funzionali alla distanza dal punto sorgente della contaminazione (se ne vedrà più avanti un'applicazione in situazione reale), in altri, le metrature ridotte rendono l'artificio non necessario.

6.2 Analisi: valutazione della contaminazione

Come già descritto nella letteratura scientifica, la misura di CA nell'ambito di un monitoraggio ambientale può contare su tecniche strumentali solide e precise che consentono di discriminare quantità di sostanza davvero ridotte. Se pensiamo alle applicazioni in cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa, si arriva a limiti di rivelabilità (LoD) dell'ordine di qualche nanogrammo/L. Naturalmente il prezzo da pagare sono metodiche sempre più lunghe e complesse che prevedono una fase preparativa del campione, a scopo di "concentrare" e purificare il farmaco investigato, aumentando la sensibilità del metodo, ma anche il tempo di analisi. I metodi analitici messi a punto e pubblicati dal LaTMA, si basano su determinazioni per lo più cromatografiche con rivelatori tradizionali (UV-Visibile) che, pur mantenendo una sensibilità più che adeguata agli scopi, consentono tempi di analisi molto ridotti e acquisizione dati con buon grado di accuratezza e precisione. I metodi messi a punto per la determinazione di antitumorali quali Dacarbazina ed Epirubicina, risultano ancora non validati poiché impiegati su esplicita richiesta di una struttura in particolare, monitorata nel 2009 e di scarso utilizzo generale. Per il dettaglio analitico strumentale dello sviluppo metodo si fa riferimento all'allegato tecnico.

È ben noto che l'espressione della contaminazione relativa ad una determinata superficie fa riferimento ad un rapporto tra quantità di sostanza (solitamente espressa in grammi o sottomultipli) e superficie campionata (solitamente espressa in m^2 o sottomultipli). A tal proposito è bene definire quella grandezza che individua la minima quantità discriminabile su una superficie.

Con il termine di limite di rilevabilità analitica si intende la più piccola quantità di ciascun farmaco tracciante rilevabile sulla superficie esaminata, espressa in $\mu g/m^2$, massa di farmaco misurata rispetto alla superficie campionata. Tale limite di rilevabilità, espresso come soglia di rivelazione della contaminazione, (Limit-of-Contamination; LoC), può variare, poiché dipende:

- a) dall'estensione della superficie di ciascun punto di campionamento, che determina la quantità di farmaco raccolta;
- b) dalla sensibilità della tecnica analitica impiegata per la misura, in termini di limite analitico di rivelazione;
- c) per ogni farmaco monitorato, dalle caratteristiche di persistenza, stabilità chimica e mobilità ambientale.

Il criterio per stabilire l'ordine di grandezza del LoC è:

LoC ($\mu g/m^2$)	=	LoD ($\mu g/ml$)	*	max vol. per detersione (ml)	(6.1)
				max area detersa (m^2)	

alternativamente per il calcolo del LOC relativo al campionamento di piccoli oggetti come maniglie di armadi, frigoriferi, cornette telefoniche e altro, il LOC può essere egualmente ottenuto come:

LoC ($\mu g/m^2$)	=	LoD ($\mu g/ml$)	*	min vol. per detersione (ml)	(6.2)
				min area detersa (m^2)	

analogamente per ottenere il valore che esprime la contaminazione di una determinata superficie, partendo dalla misura effettuata con analisi strumentale, si trasforma il dato analitico ottenuto, normalmente espresso in $\mu g/mL$, moltiplicando lo stesso per il volume corrispondente di campionamento rispetto all'esatta estensione della superficie campionata, espressa in m^2 .

Un valore indicativo e generale di LoC si colloca per ciascun farmaco intorno alla concentrazione di **1 $\mu g/m^2$** .

L'assenza di contaminazione sarà definita su base analitica, in particolare sul limite di rilevabilità per i differenti farmaci misurati. Si definisce, viceversa, come 'positivo' un campione nel quale almeno uno dei farmaci impiegati quali traccianti risulta analiticamente identificabile ($>LoC$). Sulla base dell'esperienza accumulata e considerata la contaminazione delle superfici riscontrata in numerose campagne di monitoraggio effettuate, si può ragionevolmente affermare che una contaminazione di $10 \mu g/m^2$ pari a 10 volte il LoC, rappresenti un valore sufficientemente elevato e tale da far considerare presente la contaminazione della superficie in esame.

6.2.1 Strumenti per il calcolo della contaminazione di superfici

Il referto igienistico tradizionale assunto a modello per la descrizione della contaminazione di una o più superfici di un locale di preparazione/somministrazione farmaci, è solitamente costituito da una griglia di valori che definiscono il livello di contaminazione “puntuale”, quella cioè associata alla porzione di piano che ciascuno di questi punti di campionamento descrive. Tale modalità è senz’altro efficace, soprattutto per rivelare eventuali accadimenti accidentali (sversamenti di farmaco, gocciolamento delle sacche di infusione), valutando contaminazioni macroscopiche (hot spot), ma al fine di meglio interpretare i risultati ottenuti, può risultare utile definire alcuni parametri, calcolabili dall’insieme dei risultati del monitoraggio, maggiormente idonei rispetto ai dati singoli, per il confronto quantitativo di realtà differenti. Così per esprimere il livello di contaminazione medio di un generico locale preparazione verrà calcolato il:

Valore medio di contaminazione delle superfici delle zone di lavoro individuate, definito come il rapporto tra la massa totale di ciascun farmaco tracciante misurato (espressa in microgrammi) e la somma delle estensioni delle superfici campionate (espressa in metri quadrati). Più sinteticamente:

$$\Sigma \mu\text{g Tracc.} / \Sigma \text{m}^2 \text{Sup}$$

Il valore medio della contaminazione è l’indicatore sintetico adottato per classificare il livello di contaminazione della zona esaminata. Più in generale usiamo definire indicatori assoluti che rendano conto della contaminazione prodotta sotto la cappa di preparazione farmaci (punto sorgente della contaminazione) e nell’area circostante. Così si avrà:

Indicatore assoluto di contaminazione interna (dentro la cappa di preparazione) calcolato come rapporto tra la massa di tutti i traccianti misurati e l’estensione della superficie interna della cappa di preparazione, comprendente il ripiano di lavoro e la superficie delle tre pareti interne, per un’altezza di 30 cm a partire dal ripiano. Più sinteticamente:

$$\Sigma \mu\text{g Tracc.} / \text{SupInt.}(\text{m}^2)$$

Indicatore assoluto di contaminazione esterna (nel locale preparazione) calcolato come rapporto tra la massa dei traccianti misurati e la somma delle estensioni di tutte le superfici campionate del locale preparazione (esclusa la superficie di lavoro della cappa), ma non degli eventuali locali filtro ad esso attigui. Più sinteticamente:

$$\Sigma \mu\text{g Tracc.} / \text{SupExt.}(\text{m}^2)$$

In assenza di valori proposti a livello ufficiale da adottare quale riferimento per la definizione della salubrità dell’ambiente, diviene necessario fare riferimento a criteri puramente empirici per descrivere il livello della contaminazione riscontrata.

6.2.2 Criteri guida per la valutazione della contaminazione

L’analisi dei dati ottenuti da una campagna di monitoraggio può essere effettuata per confronto con intervalli di valori di contaminazione ambientale fissati arbitrariamente ed assunti quali indicatori di qualità (efficienza ed efficacia) dei presidi tecnici e delle procedure

di lavoro adottate per il contenimento della contaminazione (sotto cappa) e la limitazione della sua diffusione (al suo esterno).

Tali intervalli, a titolo puramente indicativo, possono essere suggeriti ai fini della classificazione dell'entità della contaminazione delle superfici degli ambienti di lavoro. I valori sono riportati come valore limite o come intervalli di contaminazione areica riferiti ai farmaci misurati come traccianti e coincidono con classi crescenti di livello di contaminazione. Ad ogni livello corrisponde un giudizio sintetico sull'idoneità delle procedure di lavoro messe in atto per evitare l'accidentale spandimento del farmaco sulla cappa e l'incontrollabile sua disseminazione negli ambienti di lavoro circostanti e, di conseguenza per limitare la potenziale esposizione degli operatori ai farmaci manipolati. Il valore medio della contaminazione, calcolato come indicatore assoluto della contaminazione, è lo strumento che consente di collocare la struttura investigata nella classe adeguata, e permette di formulare di conseguenza i giudizi di idoneità corrispondenti al livello di contaminazione riscontrato.

Tabella 6.2

<i>Classificazione del livello medio di contaminazione</i>	<i>Giudizio sintetico sulle procedure di lavoro</i>
1 - 10 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ Assente	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dispersione della contaminazione durante le fasi di preparazione delle terapie mantenuta sotto controllo ai valori minimi</i> • <i>Decontaminazione delle superfici esterne alla cappa correttamente praticate ed adottate frequentemente</i>
10 - 100 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ Presente	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Limitata dispersione della contaminazione durante le fasi di preparazione delle terapie</i> • <i>Decontaminazione delle superfici esterne alla cappa non correttamente praticate ed adottate poco frequentemente</i>
100 - 1000 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ Significativamente presente	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dispersione della contaminazione durante le fasi di preparazione delle terapie parzialmente controllata</i> • <i>Le procedure di decontaminazione delle superfici esterne alla cappa necessitano di revisione</i>
>1000 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ Eccessivamente presente	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Inadeguatezza nelle procedure di preparazione dei CA e di decontaminazione delle superfici di lavoro.</i> • <i>Necessità di rivedere le modalità di contenimento</i>

I valori così come appaiono in tabella 6.2 sono definiti sulla base delle esperienze di monitoraggio effettuate in precedenza (oppure pubblicati negli ultimi 10 anni nella letteratura scientifica nazionale ed internazionale) da parte di questo Laboratorio e rappresentano indicativamente le diverse situazioni osservate in funzione dei diversi gradi di efficacia tecnica e procedurale ottenuta nel contenimento della contaminazione.

Considerando i valori massimi riscontrabili nella pratica del monitoraggio in diversi ambienti, valori compresi tra 10 e 100 volte il limite di rivelazione analitica possono rappresentare soglie sufficientemente realistiche al fine di considerare contaminate le superfici indagate, ed adeguate al fine di discriminare condizioni organizzative e procedure di lavoro più o meno accurate ed efficaci.

L'uso di questo solo criterio per definire l'entità della dispersione ambientale dei farmaci antineoplastici soffre però, oltre che dell'empirismo su cui è basato, anche di alcune limitazioni interpretative. I valori di contaminazione areica, così definiti, tengono conto delle quantità disperse, ma non delle quantità dei farmaci preparati giornalmente o settimanalmente. Pertanto i valori di contaminazione delle superfici non sono interamente esaustivi al fine di definire l'idoneità delle procedure di lavoro in funzione della ripetitività delle operazioni manuali effettuate, ovvero in funzione delle quantità di farmaci manipolati.

6.2.3 Nuovi strumenti per il calcolo della contaminazione

L'idea originale che sottende alla definizione di nuovi indici di contaminazione, che chiameremo sinottici, sta nella normalizzazione del valore di contaminazione trovato, in funzione della quantità totale di farmaco manipolato. Questa accortezza, non solo tenta di descrivere il numero di operazioni effettuate dall'operatore, ma permette di "mediare" il livello di contaminazione sul carico di lavoro effettivo che la struttura sopporta, consentendo di ottenere un'indicazione più veritiera sul grado di efficienza dell'area investigata in termini di operatività e capacità di contenimento della contaminazione. I nuovi indici saranno pertanto ancora un rapporto tra la contaminazione totale dovuta ai traccianti e la quantità totale di traccianti manipolata. Per una trattazione rigorosa è d'obbligo sottolineare che, calcolare quantità totali di farmaci diversi, significa utilizzare, non le unità ponderali (ad es., i microgrammi), ma quelle molecolari corrispondenti: di conseguenza, per le sostanze a basso peso molecolare (che costituiscono i farmaci comunemente impiegati), le corrispondenti unità sono le nanomoli. Ciò premesso si definisce:

Indice sinottico di contaminazione interna e1 (dentro la cappa)		(6.3)
e1 =	Σnanomoli Tracciante	
	Σmillimoli totali	

ovvero il rapporto tra la quantità totale di farmaci misurati sulle superfici interne della cappa di preparazione (espressa come nanomoli totali dei farmaci traccianti) e la loro corrispondente quantità preparata nella giornata di campionamento (espressa come millimoli totali dei tre farmaci).

Indice sinottico di contaminazione esterna e2 (nel locale preparazione)		(6.4)
e2 =	Σnanomoli Tracciante	
	Σmillimoli totali	

ovvero il rapporto tra la quantità totale di farmaci misurati sulle superfici del locale di preparazione (espressa come nanomoli totali dei farmaci traccianti) e la loro corrispondente quantità preparata nella settimana del campionamento (espressa come millimoli totali dei tre farmaci).

In funzione dell'efficacia della manualità dei preparatori o somministratori, della congruenza delle procedure di lavoro e dell'adeguatezza dei mezzi di contenimento adottati, sempre in maniera empirica ed arbitraria e sulla base delle esperienze pregresse, risulta possibile suggerire intervalli di valori dei due indici sopradetti come riportato nella Tabella 6.3. Al variare dei due indici (confinamento sotto cappa, dispersione nel locale), varia l'entità della dispersione ambientale nelle sue diverse componenti tecniche ed operative.

Tabella 6.3 - Valori indicativi suggeriti ai fini della classificazione dell'efficacia e dell'efficienza delle condizioni e procedure di lavoro.

<i>(e1) Indice di contaminazione interna</i>	<i>Categorie di accuratezza ed efficacia</i>	<i>(e2) Indice di contaminazione esterna</i>	<i>Categorie di accuratezza ed efficacia</i>
< 10	<i>Dispersione della contaminazione durante le fasi di preparazione delle terapie mantenuta sotto controllo ai valori minimi</i>	< 0,1	<i>Decontaminazione delle superfici esterne alla cappa correttamente praticate ed adottate frequentemente</i>
10 – 100	<i>Limitata dispersione della contaminazione durante le fasi di preparazione delle terapie</i>	0,1 – 1	<i>Decontaminazione delle superfici esterne alla cappa non correttamente praticate ed adottate poco frequentemente</i>
100 – 1000	<i>Dispersione della contaminazione durante le fasi di preparazione delle terapie parzialmente controllata</i>	1 - 10	<i>Le procedure di decontaminazione delle superfici esterne alla cappa necessitano di revisione</i>
> 1000	<i>Inadeguatezza nelle procedure di preparazione dei CA e di decontaminazione delle superfici di lavoro.</i>	> 10	<i>Necessità di rivedere le modalità di contenimento</i>

I due indici si prestano inoltre ad ulteriori interpretazioni: lo studio della associazione tra i due ed il grado di correlazione esistente, permette infatti di definire in maniera sinottica le diverse condizioni tecniche ed operative che possono caratterizzare realtà di lavoro diverse. La lettura incrociata di e1,e2 su una griglia bidimensionale individua aree distinte a descrizione delle molteplici situazioni possibili, ognuna delle quali associata ad un certo livello di efficienza, operatività e capacità di contenimento della contaminazione:

D) Contaminazione eccessiva e non accettabile

C) Contaminazione significativamente presente

B) Contaminazione apprezzabile

A) Contaminazione praticamente assente

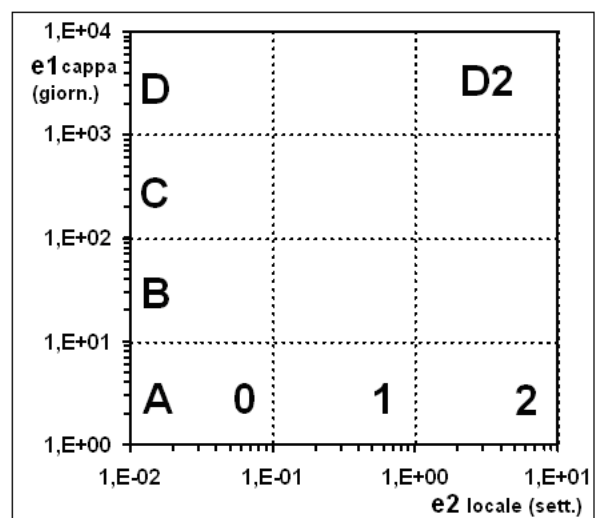


Figura 6.2. *Confronto degli indici di contaminazione (e1) della cappa ed (e2) del locale, calcolati sulla base del consumo giornaliero/settimanale di farmaci.*

Note: i valori sono riportati in scala logaritmica su base decimale: $1E-02$ corrisponde a 0,01; $1E-01=$ 0,1; $1E+00=$; $1E+01=$ 10; $1E+02=$ 100; ecc.

Uno studio più dettagliato della posizione dei valori ottenuti in una singola campagna di monitoraggio nell'ambito delle zone (A0), (B0), (C0), (D0) e le corrispondenti aree (1), (2) identificate nel diagramma, fornisce informazioni circa l'efficienza e l'efficacia delle misure tecniche organizzative e procedurali del lavoro nel contenimento della contaminazione alla sorgente (cappa) e nella sua diffusione ambientale.

Avremo così che A0, B0, C0, D0, caratterizzano ambienti con variabile contaminazione sotto cappa ma adozione di efficaci misure di contenimento della diffusione della contaminazione nel locale monitorato.

Analogamente, A0, A1, A2 indicano locali con crescente diffusione ambientale della (modesta) contaminazione presente sotto cappa e con la presenza di carenti procedure di contenimento della sua diffusione .

Analogamente ancora, pertanto, D2 indica un locale in cui un'elevata contaminazione della cappa unita ad un'elevata diffusione ambientale della contaminazione denuncia gravi carenze infrastrutturali, organizzative e procedurali, tali da indurre a rischio , nel lungo periodo, la salute dei lavoratori addetti.

Tra queste due situazioni estreme si collocano tutte le 12 combinazioni possibili dei due parametri, ognuna di esse con criteri interpretativi diversi.

6.2.4 Confronto tra campagne di misura e uso dei benchmark

L'intrinseca empiricità nell'analisi dei dati di monitoraggio può essere mitigata anche dal confronto dei dati tra indagini differenti, sia svolte sulla medesima realtà in momenti diversi, sia relativi a realtà differenti, considerate quale riferimento. A questo fine, abbiamo elaborato un database di risultati, raccolti in un decennio di indagini, per valutare i numerosi fattori inevitabilmente legati alle differenze strutturali ed organizzative delle diverse realtà che condizionano l'entità della contaminazione sia sotto cappa che nei locali di preparazione o somministrazione, identificando una serie di valori tipici rappresentativi della realtà ospedaliera lombarda assumibili come valori di riferimento ('benchmark').

In particolare, è stato condotto uno studio esplicitamente rivolto a definire i valori minimi di contaminazione in una UMaCA con l'uso delle migliori tecnologie (cappa a flusso laminare con espulsione esterna) con l'adozione delle più stringenti misure di sconfinamento (cambio frequente dei guanti degli operatori, pulizia immediata degli sversamenti, igiene scrupolosa del posto di lavoro) e con la gestione delle attività di preparazione da parte di personale particolarmente ben addestrato ad un elevato e continuo carico di lavoro.

Elaborando i risultati ottenuti è stato possibile dimostrare che sussistono relazioni quantitative affidabili tra la quantità di farmaci preparati (giornalmente o settimanalmente) sia con l'entità della loro presenza all'interno della cappa, sia con la contaminazione globale delle superfici nel locale di preparazione. Queste relazioni, per la natura degli apprestamenti strutturali, procedurali ed organizzativi della realtà da cui sono state ricavate, possono essere considerate quali riferimenti rappresentativi dell'adozione delle migliori pratiche di controllo della contaminazione tecnicamente e praticamente attuabili ('benchmark A.L.A.R.A.').

Le Figure 6.3 e 6.4 mostrano i grafici e le rette di regressione calcolate (con i relativi margini di incertezza), delle relazioni esistenti tra quantitativi dei singoli farmaci trattati settimanalmente e quantità sversate sotto cappa o disperse nel locale preparazione. Le equazioni di regressione riportate risultano valide in un ampio intervallo di volume di attività e di quantità di farmaci preparati; sono generalizzabili ed estensibili a qualsiasi farmaco preparato, pur diverso dai traccianti qui considerati, e permettono di confrontare i risultati del monitoraggio di una qualsiasi struttura con quelli di riferimento (benchmark A.L.A.R.A.) tecnicamente e proceduralmente raggiungibili.

La valutazione di una specifica realtà può essere pertanto espressa in termini sintetici rispetto al benchmark A.L.A.R.A. calcolando:

- a. la quantità totale di farmaci misurata nella cappa (espressa come nanomoli totali) in funzione della quantità totale dei medesimi farmaci preparati nell'arco della settimana di lavoro (espressa in millimoli);
- b. la quantità totale dei farmaci misurati nel locale (espressa come nanomoli totali) in funzione della quantità totale dei medesimi farmaci preparati nell'arco della settimana di lavoro (espressa in millimoli);
- c. la contaminazione areica globale del locale di preparazione (calcolata come somma delle quantità di farmaci misurati su tutte le superfici del locale eccetto la cappa di preparazione

ed espressa in nanomoli per metro quadrato) in funzione della quantità totale dei medesimi farmaci preparati nell'arco della settimana di lavoro.

Questo tipo di elaborazione consente di comparare tra loro sia risultati di monitoraggio osservati in una medesima struttura in tempi differenti, sia di strutture differenti, in modo totalmente oggettivo e sostanzialmente indipendente dalle specifiche quantità e tipologie di farmaci di volta in volta considerati come traccianti. Il confronto può usufruire dell'ausilio delle rette di regressione riportate in figura 6.3 e 6.4 che mostrano i valori ottenibili con un controllo ottimale dei fattori tecnici ed operativi che causano la contaminazione. Tutte le realtà i cui valori di monitoraggio sono collocati in posizione superiore alla retta di regressione assunta come riferimento, sono da considerare quantomeno migliorabili rispetto a quanto le migliori tecnologie o le corrette procedure di lavoro permettono di realizzare. All'opposto realtà lavorative i cui dati di monitoraggio della contaminazione risultano posizionati sulla retta di regressione sono da considerare ottimali e non necessitano di miglioramenti o ottimizzazioni ma solo d'interventi periodici di controllo volti a verificare la costanza nel tempo delle buone condizioni delle attività.

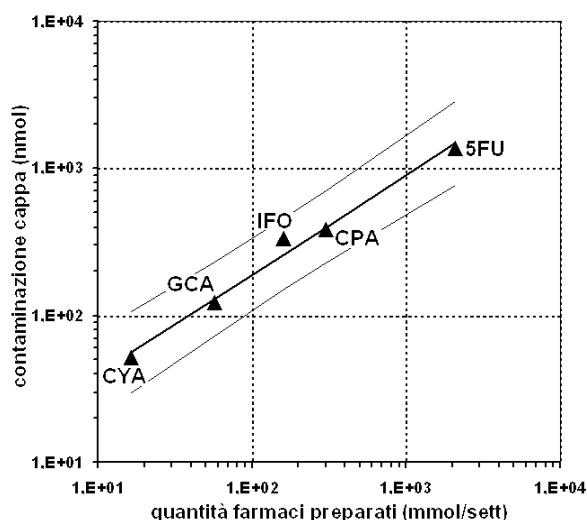


Figura 6.3

$$Y = 0,927 \pm 0,101 + 0,675 \pm 0,044 * X \quad (R^2 = 0,9938)$$

Relazione di riferimento tra la contaminazione misurata all'interno della cappa di preparazione (Y) e la quantità di 5 farmaci traccianti preparati nella settimana (X) nelle condizioni di massima sicurezza.

Nota: i valori sono riportati in scala logaritmica su base decimale: 1E-01 = 0,1 nmol/m²; 1E+00 = 1 nmol/m²; 1E+01 = 10 nmol/m² oppure 10 mmol/settimana; 1E+02 = 100 nmol/m² oppure 100 mmol/settimana; ecc. (1 nmol di farmaci citostatici pesa mediamente 100-500 ng)

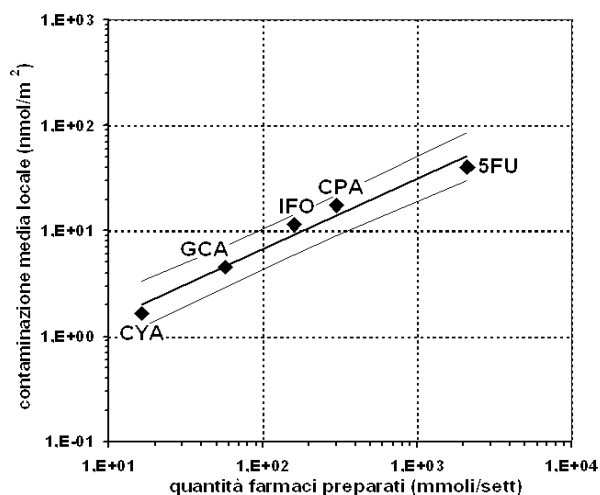


Figura 6.4

$$Y = -0,509 \pm 0,155 + 0,666 \pm 0,069 * X \quad (R^2 = 0,9843)$$

Relazione di riferimento tra la contaminazione misurata sulle superfici del locale UMaCA il Venerdì (Y) e la quantità di 5 farmaci traccianti preparati nella settimana (X) nelle condizioni di massima sicurezza.

Il modello interpretativo descritto, trova piena applicazione per esempio, nel confronto di risultati prodotti da misure eseguite dal laboratorio in una campagna di monitoraggio ambientale effettuata nel 2007 in 8 strutture ospedaliere della regione Lombardia. Nei grafici delle Figure 6.5 e 6.6 sono riportate, le entità della contaminazione globale delle cappe di preparazione (Figura 6.5) e delle superfici del locale Farmacia (Figura 6.6) di ciascun ospedale, in funzione della quantità complessiva di farmaci settimanalmente preparati. Il confronto è effettuato rispetto ai livelli attesi, ovvero quelli riscontrati nella situazione assunta come rappresentativa dell'adozione delle migliori pratiche di controllo della contaminazione tecnicamente e praticamente attuabili, (il *benchmark A.L.A.R.A.*) sopra descritto.

Per rendere il confronto maggiormente apprezzabile nel suo significato in termini preventivi, sono riportati rispetto al *benchmark A.L.A.R.A.* non solamente i risultati relativi alla campagna di indagini 2007, ma anche quelli ottenuti in controlli precedenti condotti dal Laboratorio (*benchmark di altri ospedali*):

- a. il primo gruppo di risultati (identificati con il triangolo nero ▲ contrassegnati con le lettere da A a H) è relativo alle 8 UMaCA citate come esempio;
- b. il secondo gruppo di risultati (identificati col rombo nero ◆) è relativo a 8 Farmacie dedicate di reparto, situate in grandi ospedali milanesi ed esaminate nel periodo 1997-2002;
- c. il terzo gruppo di risultati (identificati col cerchio nero ● numerati da 1 a 4) è relativo alle indagini di controllo periodicamente effettuate dal 1999 al 2006 in una UMaCA che adotta le migliori procedure di controllo della contaminazione.

Per quanto riguarda l'entità della contaminazione della cappa di preparazione (grafico 6.5), dalla posizione dei valori del monitoraggio rispetto alla retta di regressione dei valori di *benchmark A.L.A.R.A.*, risulta evidente che in 5 UMaCA (A,B,C,D,E) la dispersione dei farmaci si mantiene al di sotto dei valori ottimali, mentre nelle rimanenti 3 (F,G,H) essa è da 5 a 100 volte superiore a quanto risulterebbe tecnicamente possibile adottando migliori pratiche di lavoro.

I valori di contaminazione misurati sulle superfici del locale preparazione (grafico 6.6) mostrano che in 4 UMaCA (A,C,D,E) la entità della dispersione si mantiene compresa nei limiti della variabilità della retta di regressione (identificata dalla coppia di linee tratteggiate al di sopra e al di sotto della retta centrale), mentre nelle rimanenti 4 (B,F,G,H) risulta da 5 a 100 volte superiore a quanto tecnicamente possibile adottando migliori pratiche di lavoro.

Nel complesso delle UMaCA (A,C,D,E), tali osservazioni indicano che:

- 1) i presidi tecnici e le procedure di preparazione dei farmaci adottate sono da reputarsi efficaci;
- 2) le condizioni di disseminazione della contaminazione appaiono controllate e non si riscontrano situazioni riconducibili a sversamenti accidentali o inconvenienti che ne modifichino l'efficacia;
- 3) le procedure di decontaminazione sono da reputarsi efficaci e correttamente praticate;
- 4) queste realtà non appaiono necessitare di indagini ulteriori nel breve periodo.

Per altre UMaCA (B,G,H), i valori si prestano ad una interpretazione diversa ed in qualche misura opposta, poiché le procedure appaiono ancora migliorabili rispetto all'obiettivo di

ridurre la dispersione dei farmaci sotto cappa e nel locale di preparazione ai livelli minimi raggiungibili. Il corretto addestramento del personale e l'implementazione di procedure adeguate di lavoro possono essere considerati meritevoli di maggiore attenzione. È lecito in questi casi suggerire una verifica delle condizioni e procedure di lavoro per identificare i miglioramenti tecnico-organizzativi necessari alla riduzione della presenza e diffusione della contaminazione.

Per la farmacia F le misure indicano la necessità di verificare funzionalità ed efficacia sia delle infrastrutture, sia delle procedure di lavoro.

Sulla base di specifiche premesse con cui è normalmente condotta un'indagine ambientale dal laboratorio LaTMA, ovvero la non effettuazione della pulizia routinaria del locale oggetto di prelievi nel giorno di campionamento, considerando i livelli elevati, di contaminazione misurata sulle superfici del locale preparazione, risulta comunque evidente in questi casi (B,G,H,F), la necessità di implementare le procedure di decontaminazione, ovvero di pulizia quotidiana dei locali al termine delle attività di preparazione.

Considerazioni oltremodo interessanti emergono qualora si confrontino i risultati della campagna di monitoraggio presa ad esempio nel 2007 con situazioni antecedenti condotte in maniera analoga su strutture ospedaliere differenti nel quinquennio 1997-2002 identificate in un gruppo di 8 Farmacie ospedaliere di reparto dedicate alla preparazione di farmaci antitumorali (risultati identificati col rombo nero ◆ nelle figure 6.5 e 6.6). Dal confronto è possibile infatti constatare che i valori dell'indagine esempio, sono nettamente inferiori a quelli misurati in precedenza. I livelli di contaminazione mediamente presenti negli spazi ospedalieri risultano ridotti nel 2007, di oltre due ordini di grandezza rispetto al periodo a cavallo del quale avviene, a livello legislativo, il recepimento della norma tecnica (anni 1997-02, Rubino et al 1999-2000). Dato ormai per acquisito l'impiego generalizzato dei DPI specifici per la manipolazione di CA, l'esposizione a dosi di interesse tossicologico sembra essere relegata ai soli casi di incidente (Rubino et al 2006, Cavallo et al 2005). Una tale interpretazione dei dati ottenuti, ci permette di avvalorare l'ipotesi che la disposizione della normativa sulla manipolazione dei chemioterapici ('Documento di linee guida per la sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antitumorali in ambiente sanitario' (G.U. n°236 del 7 ottobre 1999) e la successiva ratifica regionale (Provvedimento della conferenza delle regioni per l'applicazione dell'accordo del 5 agosto 1999 sulla sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antitumorali in ambiente sanitario -Allegato al Decreto Regione Lombardia 11/12/2001 n.31139) abbiano creato i presupposti per una sempre maggiore attenzione e consapevolezza del personale addetto al problema relativo a esposizione a CA. In quest'ottica sono da considerarsi essenzialmente come coronati da successo gli investimenti infrastrutturali e gli intenti organizzativi finalizzati all'implementazione delle buone procedure di lavoro suggerite nella citata Circolare Regionale.

Infine, dai risultati mostrati nelle figure 6.5 e 6.6, (identificati col cerchio nero ● numerati da 1 a 4) è possibile apprezzare l'utilità del controllo periodico della contaminazione degli ambienti di lavoro nella stessa farmacia controllata per 4 anni consecutivi, eseguito per verificare la costante idoneità e adeguatezza delle procedure di preparazione dei farmaci e di pulizia dei locali a garanzia dell'assenza di una indebita esposizione del personale sanitario ai farmaci manipolati.

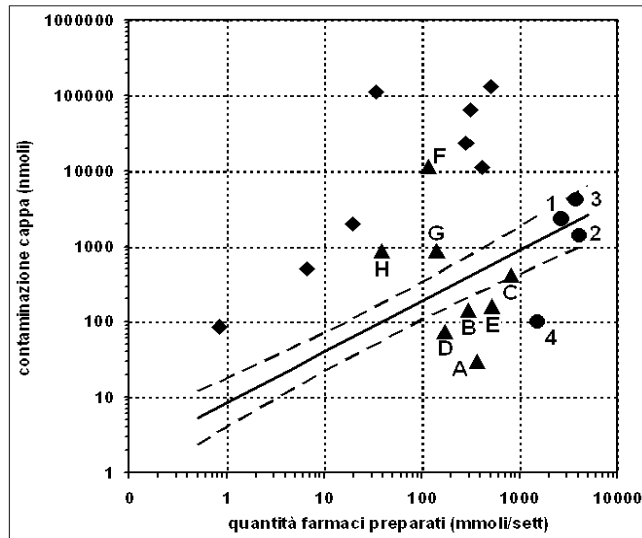


Fig. 6.5 Relazione tra la contaminazione misurata all'interno della cappa di preparazione il Venerdì e la quantità di farmaci giornalmente preparati nelle 8 UMaCA oggetto dell'indagine e in altre situazioni di riferimento.

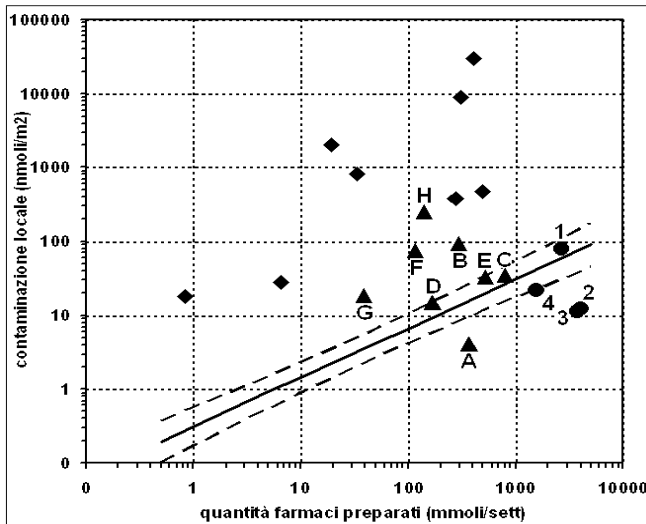


Fig. 6.6 Relazione tra la contaminazione misurata nel locale UMaCA il Venerdì e le quantità di farmaci giornalmente preparati nelle 8 UMaCA oggetto dell'indagine e in altre situazioni di riferimento

Legenda:

- ▲ : contrassegnato con le lettere A-H: primo gruppo di risultati relativo alle 8 UMaCA oggetto dell'attuale campagna di indagini;
- ◆ : gruppo di risultati relativi a 8 Farmacie dedicate di reparto, situate in grandi ospedali milanesi ed esaminate nel periodo 1997-2002;

Ad ulteriore conferma dell'efficacia relativa all'applicazione della normativa vigente riguardo la manipolazione di CA, altri risultati sono disponibili nella letteratura scientifica, con esiti talvolta addirittura più eclatanti rispetto a quelli già mostrati. Anche in questo caso i valori di contaminazione delle superfici sono stati ottenuti mediante l'applicazione di un metodo (Sottani et al 1999) sviluppato e ottimizzato per la determinazione di CA in matrici ambientali (pads e wipe tests).

L'applicazione di tale metodo ha permesso di evidenziare le possibili sorgenti di contaminazione all'interno e/o esterno della stanza di preparazione di CA. Dallo storico dei dati ottenuti è stato ricavato un grafico (Figura 6.7) che rappresenta l'andamento nel tempo (1998-2011) della contaminazione per CP in differenti aree di lavoro raggruppate in 3 zone principali (area sotto cappa flusso laminare, superfici di lavoro all'interno e all'esterno della stanza di preparazione). Si è delineato, in alcune situazioni (in Italia), uno scenario che riflette una progressiva riduzione della contaminazione nell'arco di 15 anni di circa un fattore 1000:

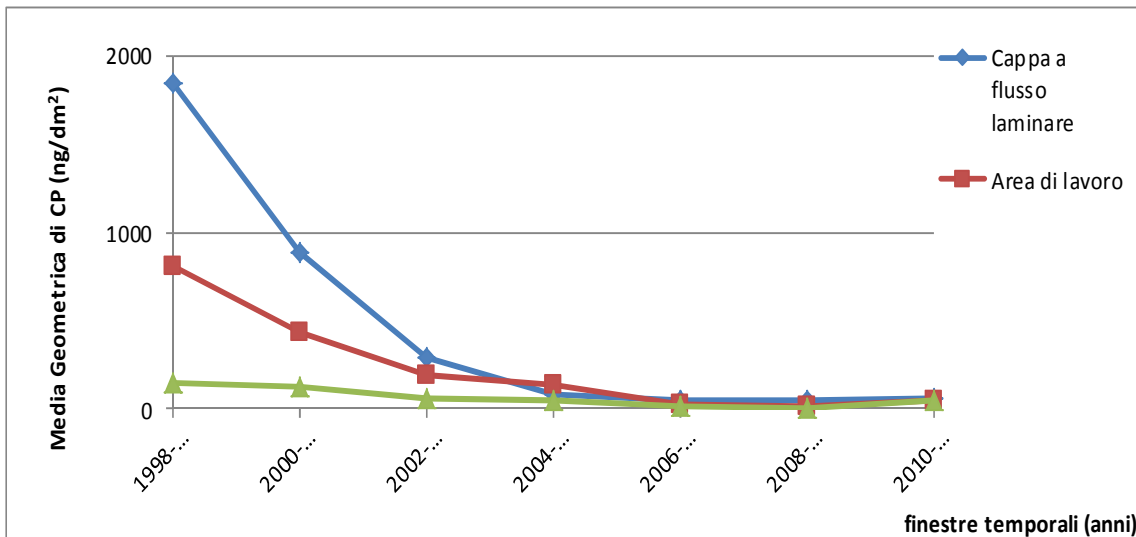


Figura 6.7 - Andamento della contaminazione delle superfici di lavoro per ciclofosfamida espressa come media geometrica delle concentrazioni trovate in un arco di tempo di 14 anni (1998-2011).

6.3 Caratteristiche delle strutture ospedaliere investigate

Le strutture oggetto del monitoraggio ambientale del corrente lavoro, sono due importanti realtà ospedaliere del nord Italia, all'avanguardia nel trattamento delle neoplasie, con reparti oncologici di ultima generazione in termini infrastrutturali, dotate cioè di locali specifici adibiti unicamente alla preparazione di infusioni chemioterapiche, corredati di tutti gli accorgimenti strutturali suggeriti dalla normativa, a partire dalla cappa di preparazione farmaci a flusso laminare verticale di classe II, con annesso locale filtro per vestizione e svestizione del personale addetto, facente uso di D.P.I. personali monouso, ecc. Dai colloqui effettuati in sede preliminare con i responsabili del servizio di prevenzione e protezione sono inoltre garantiti i continui corsi di formazione e i training di addestramento per mantenere lo standard di operatività e professionalità del personale addetto alla manipolazione e somministrazione farmaci, ai massimi livelli.

Il carico di lavoro è stato misurato attraverso richiesta delle quantità di farmaci impiegati nel mese/settimana immediatamente precedenti il giorno del campionamento, attraverso compilazione di un foglio excell opportunamente preparato

6.4 Raccolta campioni

Il criterio che abbiamo seguito per scegliere i traccianti per la descrizione della contaminazione, strategicità e numero di campionamenti da effettuare, è quello enunciato nei paragrafi 6.1.2, 6.1.3. Nei giorni scelti per il monitoraggio, sono stati effettuati un totale di 104 campionamenti (rispettivamente 81 e 23 nelle due diverse strutture).

6.5 Metodi analitici impiegati e analisi effettuate.

Abbiamo effettuato analisi chimiche su ognuno dei campioni raccolti per la determinazione di sette principi attivi differenti (5-FU, CYA, GCA, MTX, EPI, DAC, VIN) per un totale di 520 analisi e 728 determinazioni analitiche.

Tutti i metodi analitici utilizzati nel corrente lavoro sono stati sviluppati con strumentazione analitica Thermo per cromatografia liquida ad alte prestazioni dotata di sistema di pompaggio (P1000) utilizzato in eluizione isocratica, munito di auto campionatore tarato con loop fisso a 20 µL su vials con capienza massima di 1,5 mL e sistema di rivelazione UV/VIS. a lunghezza d'onda fissa (UV1000). Il sistema automatizzato si interfaccia a livello informatico con un software data sistem personalizzato Thermo PC1000 (ver. 3.0).

L'applicazione di metodi già pubblicati nella letteratura scientifica e lo sviluppo di nuovi, fa uso del criterio di rette di calibrazione con soluzioni standard a concentrazione nota e crescente in rapporto a standard interni a concentrazione fissa. La preparazione delle soluzioni standard avviene per diluizioni successive di soluzioni madri opportunamente preparate da produzioni farmaceutiche certificate e garantite. l'intervallo di concentrazioni considerato varia a seconda del tipo di farmaco misurato, da un minimo di 0,025 µg/mL ad un massimo di 10 µg/mL.

Le soluzioni di standard interno, per ogni metodo, vengono preparate partendo da soluzioni dell'ordine di grandezza di circa 100 µg/mL e diluite di un fattore 1:10 direttamente in vial.

L'elaborazione dei dati analitici riporta grafici costituiti dall'insieme di punti le cui coordinate cartesiane sono il rapporto dell'area del segnale Ana/S.I. (analita, standard interno) e concentrazione, per la quantificazione del farmaco. I calcoli relativi alla curva di regressione lineare con un limite di confidenza del 95% sulla concentrazione, sono eseguiti off line con un foglio di calcolo Excell. Il limite di rivelabilità (LoD) per ciascun metodo è calcolato come la concentrazione corrispondente al rapporto Ana/S.I. dato dall'intercetta sull'asse Y aumentato di una quantità pari a tre volte la deviazione standard associata alla misura.

L'elaborazione dei dati delle singole curve di calibrazione ogni volta preparate, fornisce accuratezza e precisione del metodo utilizzato. Nell'allegato tecnico a corredo del presente lavoro, si riportano le informazioni tecniche relative ai metodi analitici impiegati per la determinazione dei farmaci antitumorali investigati nelle campagne di monitoraggio effettuate nel biennio 2009-2010 con l'evidenza di un estratto dei fogli di calcolo con i parametri più significativi relativi a ciascun metodo.

6.6 Dati provenienti da altre campagne di misura LaTMA

A sostegno dell'introduzione di un modello interpretativo alternativo alla valutazione igienistica tradizionalmente adottata nei monitoraggi ambientali, ho potuto consultare i dati prodotti dal laboratorio LaTMA negli anni immediatamente precedenti al 2009. Si fa riferimento alle misure effettuate in concomitanza di una campagna di monitoraggio ambientale effettuata in collaborazione con l'ASL della Provincia di Milano n. 1, UOC Prevenzione e Sicurezza negli Ambienti di Lavoro nell'ambito del "Progetto Sanità" approvato con d.g.r. VII/18344 del 23.7.2004 e previsto dal Piano Attuativo Locale. Scopo del progetto era la riduzione del rischio da utilizzo di farmaci antiblastici nelle Farmacie di 8 strutture ospedaliere pubbliche e private accreditate. I criteri di scelta dei traccianti e delle modalità di campionamento erano le medesime impiegate nel presente lavoro, lo stesso dicasi per i metodi analitici e le strumentazioni impiegate per ottenere i risultati.

L'indagine condotta ha comportato l'analisi di 126 campioni; ogni campione è stato analizzato per la ricerca dei 3 farmaci antitumorali identificati come traccianti (5FU, GCA; CYA); in totale sono state pertanto effettuate 378 determinazioni analitiche.

Le considerazioni sul possibile effetto della normativa italiana in merito alla manipolazione di farmaci antiblastici poggiano su un confronto (paragrafo 6.2.4 figure 6.5 e 6.6) effettuato tra le indagini citate del 2007 e un gruppo di risultati relativi a 8 Farmacie dedicate di reparto, situate in grandi ospedali milanesi ed esaminate nel periodo 1997-2002. I dati che costituiscono il benchmark ALARA così come definito nel paragrafo 6.2.4, sono stati acquisiti e verificati nell'arco di un decennio di indagini che solo negli ultimi 5 anni ha contato una raccolta di più di 80 campioni per un totale di oltre 240 determinazioni analitiche.

6.7 Grandezze utilizzate per la descrizione della contaminazione.

La gran maggioranza della letteratura scientifica internazionale esprime i risultati delle indagini, relative alla contaminazione da CA di superfici di lavoro, riferendosi alla misura "puntuale" cioè quella direttamente effettuata sulla porzione di superficie campionata, in termini di concentrazione di tracciante misurato per unità di superficie (per esempio ng/cm^2 ,

pg/cm², µg/dm², µg/m², tabella 3.4). Il passaggio da valori di concentrazione in rapporto al volume (per esempio µg/L) prodotti dagli strumenti analitici impiegati, sono convertiti a concentrazioni di tracciante rispetto a superfici così come descritto nel paragrafo 6.2

Nella descrizione dei risultati introduciamo grandezze come il valor medio della contaminazione, definito nel paragrafo 6.2.1 per rendere conto del livello di contaminazione ponderato sull'insieme delle superfici campionate in un locale di preparazione farmaci al fine di descrivere il livello della contaminazione in maniera rapida e sintetica. La definizione distinta di un indicatore assoluto di misura diretta della contaminazione rispettivamente sotto cappa e nel locale preparazione, permette di formulare giudizi distinti sull'efficienza delle diverse zone dell'area investigata.

Il calcolo di indici sinottici di contaminazione così come definiti nel paragrafo 6.2.3 richiede la conversione delle unità ponderali (mg, µg) in unità molecolari (Millimoli, nanomoli). L'artificio rende lecito e tecnicamente corretto il rapporto tra la somma di nanomoli di traccianti differenti e millimoli degli stessi impiegati nelle preparazioni chemioterapiche. Le quantità di farmaco impiegate sono debitamente riportate in tabelle a corredo dei risultati ottenuti nelle indagini effettuate e risultano essere informazioni cruciali sia per la dimensione del carico di lavoro della struttura investigata, sia per calcolare esattamente gli indici sinottici di contaminazione.

7 RISULTATI

CAMPAGNE DI MONITORAGGIO AMBIENTALE 2009-2011

Le strutture oggetto del monitoraggio ambientale, sono due importanti realtà ospedaliere del nord Italia, all'avanguardia nel trattamento delle neoplasie, con reparti oncologici di ultima generazione in termini infrastrutturali, e di indiscusso livello quanto ad operatività e professionalità del personale addetto alla manipolazione e somministrazione farmaci. I risultati vengono prodotti secondo gli approcci igienistici tradizionali affiancati e confrontati con gli inediti strumenti introdotti e valutazione delle misure effettuate. Le due strutture per semplicità e riservatezza vengono individuate con le lettere A e B.

7.1. Farmaci impiegati come traccianti della contaminazione struttura A

Il criterio di scelta dei farmaci utilizzati come traccianti per la descrizione della contaminazione, è quello già enunciato nel paragrafo 6.1.2. Nello specifico della struttura A, dalla analisi dei quantitativi di farmaci impiegati mensilmente, forniti dal personale responsabile, si è concordata la misura di 5FU e GCA per quanto attiene all'unità farmaci centralizzata di nuova costruzione, sia nei locali preparazione, sia somministrazione. I quattro locali preparazione farmaci ulteriormente investigati, hanno richiesto la misura di CYA in aggiunta ai due traccianti già menzionati. Le quantità impiegate da ciascuna farmacia sono riportati nelle apposite tabelle (*tab 7.1, 7.5, 7.7, 7.9, 7.11*)

Tabella 7.1 - Quantitativi (g) dei farmaci (5-FU; GCA) preparati nel periodo 24-28 maggio e venerdì 28 maggio e il giorno del campionamento nel locale preparazione farmaci.

Periodo	Dal 24al 28 maggio 2010		
Farmaco	Quantità Preparata (g)	Quantità totale di FCA preparati (g)	Quantità Preparata Quantità totale (%)
Fluorouracile (5-FU)	96	188	51%
Gemcitabina (GCA)	50		26%
Giorno	28 maggio 2010		
Farmaco	Quantità Preparata (g)	Quantità totale di FCA preparati (g)	Quantità Preparata Quantità totale (%)
Fluorouracile (5-FU)	7	30	23%
Gemcitabina (GCA)	12		40%

7.2. Descrizione della contaminazione nell' Unità Farmaci Antiblastici struttura A

Data l'elevata estensione dell' unità di preparazione farmaci centralizzata, oggetto del monitoraggio, si è reso necessario suddividere il locale in tre aree funzionali alla distanza dal punto considerato "sorgente" di contaminazione. Si sono così ottenute tre zone distinte con rispettivi punti sensibili di campionamento:

Zona 'cappa':

- le superfici interne delle cappe (il giorno del campionamento per la preparazione delle terapie antitumorali è stata impiegata una sola cappa);
- le superfici esterne della cappa utilizzata il giorno del campionamento;
- le porzioni del pavimento in prossimità delle cappe;

Zona 'laboratorio':

- la superficie del bancone;
- le superfici degli sportelli degli armadi;
- le superfici del piano della scrivania e del telefono;
- gli sportelli di vetro (lato interno) delle tre bussole.

Zona 'adiacente':

- le superfici interne degli scaffali della bussola passa-preparazioni.
- l'interno della bussola per lo smaltimento rifiuti pericolosi.
- la superficie del ripiano scrivania e il telefono nello studio del farmacista
- porzione di pavimento nel locale spogliatoio.

Il campionamento delle superfici ha comportato un totale di 24 punti di prelievo (figura 7.1) eseguito utilizzando la procedura standardizzata del wipe sampling così come descritta nel paragrafo 6.1.3.

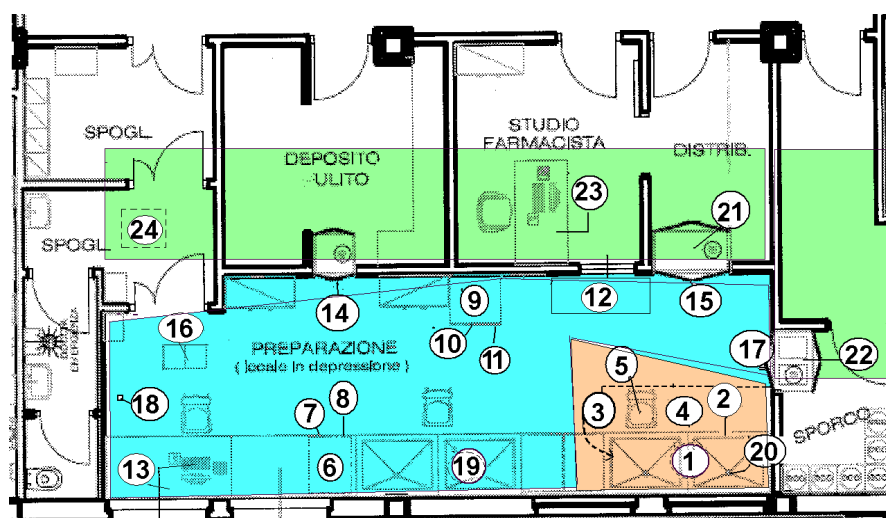


Figura 7. 1 - Assetto generale della zona preparazione CA, con riferimento alla posizione dei punti di campionamento
Nota Bene:
 Area verde : zona 'Adiacente', area blu :zona 'Laboratorio', area arancio: zona 'Cappa'.

7.2.1. Risultati del monitoraggio della contaminazione da CA nell'Unità Farmaci Antiblastici struttura A

I risultati del monitoraggio relativi alla misura dei 2 farmaci traccianti (5-FU e GCA) in ogni campione per un totale di 48 determinazioni analitiche, sono riportati nella Tabella 7.2. Dall'analisi dei valori singoli riportati, 17 sono risultati positivi per la presenza di almeno uno dei due traccianti, con una frequenza di valori misurati per ogni singolo farmaco sul totale dei campioni pari a : 15/24 per 5-FU; 9/24 per GCA. In 8 campioni è stato possibile riscontrare la presenza di entrambi i traccianti. Il valore di contaminazione più alto per il tracciante 5-FU è $47\mu\text{g}/\text{m}^2$ (superficie pavimento campione C24) , mentre le restanti superfici corrispondenti a campioni 'positivi' mostrano valori di contaminazione per lo stesso tracciante compresi nell'intervallo da $1\mu\text{g}/\text{m}^2$ a $20\mu\text{g}/\text{m}^2$.

Il valore di contaminazione più alto per il farmaco GCA corrisponde alla superficie interna della cappa in uso (C1) corrispondente a $146\mu\text{g}/\text{m}^2$, le superfici corrispondenti ai campioni C24, C2, C20 risultano contaminate da GCA con valori compresi nell'intervallo $30\mu\text{g}/\text{m}^2 - 50\mu\text{g}/\text{m}^2$.

I restanti campioni 'positivi' mostrano valori di contaminazione che variano da $5\mu\text{g}/\text{m}^2$ a $15\mu\text{g}/\text{m}^2$.

La lettura d'insieme dei risultati riportati in Tabella 7.3 mostra che il valore medio della contaminazione per 5-FU e GCA nella zona 'adiacente' e 'laboratorio' è prossimo a $10\mu\text{g}/\text{m}^2$. Inferiore a $100\mu\text{g}/\text{m}^2$ risulta il valore medio per il tracciante GCA nella zona 'cappa'. Per quanto riguarda quest'ultimo valore, è opportuno osservare che il risultato è quasi senz'altro dovuto a sversamento avvenuto sotto cappa, producendo un livello di contaminazione puntuale superiore di un fattore 10 rispetto al resto dei campioni misurati. Più in generale alla luce dei criteri stabiliti per descrivere il livello di contaminazione, si può dire che I presidi tecnici e le procedure di preparazione dei farmaci adottate sono da reputarsi efficaci nel contenimento della disseminazione della contaminazione. Le procedure di pulizia giornaliere delle superfici di lavoro esterne alla cappa possono ancora essere considerate efficaci (anche se migliorabili quelle dei pavimenti, vedasi campione n.24). In particolare, la lieve contaminazione da 5-FU, presente nell'ordine di $1-4\mu\text{g}/\text{m}^2$ su alcune superfici campionate può essere ricondotta alla presenza di un fondo costante di contaminazione del locale preparazione in forza della stabilità chimica della molecola del farmaco sulla superficie e delle quantità elevate di 5-FU giornalmente manipolate.

Tabella 7.2. Valori di contaminazione misurati nella zona 'Cappa', 'Laboratorio' ed 'Adiacente' del locale preparazione

ID Camp.	Posizione Campionamento	Vol (mL)	Area (m²)	5-FU (µg/m²)	GCA (µg/m²)
C1	Cappa in uso	50	1,9	13	146
C2	Vetro cappa in uso	20	0,6	3	46
C3	Cassone cappa in uso	20	1,0	0 ^b	0 ^b
C4	Pavimento cappa in uso	50	1,5	0 ^b	14
C5	Sedia davanti cappa in uso	20	0,5	0 ^b	0 ^b
C6	Armadietto Dx cappa non in uso: superficie superiore	20	0,6	0 ^b	0 ^b
C7	Armadietto Dx cappa non in uso: sportelli fronte esterno	20	0,7	0 ^b	0 ^b
C8	Armadietto Dx cappa non in uso: sportelli fronte interno	20	0,7	0 ^b	0 ^b
C9	Armadietto fronte cappa non in uso: superficie superiore	20	0,6	2	6
C10	Armadietto fronte cappa non in uso: sportelli fronte esterno	20	0,7	2	0 ^b
C11	Armadietto fronte cappa non in uso: sportelli fronte interno	20	0,7	2	0 ^b
C12	Tavolo davanti alle cappe	50	1,3	16	15
C13	Scrivania PC+telefono	20	0,9	2	11
C14	Vetro Bussola 'Ingresso'	20	1,0	1	5
C15	Vetro Bussola 'Uscita'	20	0,8	1	0 ^b
C16	Carrello superficie superiore	20	0,2	4	0 ^b
C17	Vetro Bussola 'rifiuti' lato locale prep.	20	1,1	1	0 ^b
C18	Asta pompa	20	0,1	24	0 ^b
C19	Cappa non in uso	20	1,9	1	0 ^b
C20	Camino Cappa in uso base inferiore	20	0,1	0 ^b	41
C21	Interno Bussola 'Uscita' sup.4 scaffali	50	2,4	0 ^b	0 ^b
C22	Interno Bussola 'rifiuti'	20	1,4	2	5
C23	Scrivania studio farmacista	50	0,6	0 ^b	0 ^b
C24	Pavimento locale spogliatoio	50	1,0	47	36
	Numero campioni risultati superiori al LoC			15/24	9/24
	Numero campioni risultati positivi ad almeno un farmaco			17/24	
NOTE: C1-C5,C20: Campioni Zona Cappa', C6-C19: Campioni Zona 'Laboratorio', C21-C24: Campioni Zona 'Adiacente'					
^b 0 = inferiore al LoC.					
LoC= limite minimo di rilevabilità della contaminazione; LoC = 1µg/m²					

Tabella 7.3 Valore medio della contaminazione calcolato nelle tre zone: 'Cappa', 'Laboratorio' e 'Adiacenti'

Zona 'Cappa'	5-FU	GCA
Massa totale del farmaco (μg) misurata nei campioni da C1 a C5	27,6	332,4
Somma superfici campionate (m^2)	7,41	7,41
Valore medio di contaminazione ($\mu\text{g}/\text{m}^2$)^c	3,7	44,8
Zona 'Laboratorio'	5-FU	GCA
Massa totale del farmaco (μg) misurata nei campioni da C6 a C19 ^a	13,9	45,3
Somma superfici campionate (m^2)	11,23	11,23
Valore medio di contaminazione ($\mu\text{g}/\text{m}^2$)^c	1,2	4,1
Zona 'Adiacente'	5-FU	GCA
Massa totale del farmaco (μg) misurata nei campioni da C21 a C24 ^a	50,1	43,3
Somma superfici campionate (m^2)	5,46	5,46
Valore medio di contaminazione ($\mu\text{g}/\text{m}^2$)^c	9,2	7,9
NOTE: ^a la massa totale di un singolo farmaco è data dalla somma delle quantità (in microgrammi) del farmaco, ritrovate nei campioni relativi alle superfici indagate nella zona indicata. ^c valore calcolato come rapporto tra la massa totale del tracciante misurato e l'estensione totale delle superfici campionate nella zona indicata.		

7.3. Descrizione della contaminazione nel locale somministrazione struttura A

La zona somministrazione è suddivisa in sette stanze per l'infusione delle chemioterapie antineoplastiche (stanze 'iniettorato' ognuna contrassegnata con diverso colore) e quattro camere per il day hospital. In collaborazione con il personale della somministrazione, il giorno del campionamento, sono state individuate, le stanze e le camere di somministrazione ove effettuare il campionamento (come segnato in figura 7.2). Allo scopo sono state considerate quattro stanze iniettorato (stanza rossa, arancio, giallo, indaco) e una camera day hospital (camera n.007), nelle quali, durante la giornata, sono state somministrate chemioterapie ai pazienti.

Nella Tabella 7.4 sono riportate le posizioni dei punti di campionamento, alla cui numerazione fanno riferimento gli identificativi dei campioni ed i risultati analitici.

In omogeneità ai numerosi sopralluoghi effettuati in strutture analoghe, nelle stanze sopraindicate, le superfici che possono presentare livelli di contaminazione di maggior interesse e su cui effettuare la misura della contaminazione da CA sono state identificare nelle:

- poltrone per la somministrazione;
- pompe di infusione e aste porta flebo ;
- porzioni di pavimento antistanti le poltrone;

Sono state di fatto considerate le superfici di 5 poltrone (con relative aste porta flebo e pompe d'infusione) utilizzate dai pazienti in terapia con GCA e 5-FU durante il giorno del campionamento, in particolare:

- Poltrona A1 stanza rossa;
- Poltrona B7 stanza arancio;
- Poltrona C10 stanza gialla;
- Poltrona E17 stanza indaco;
- Poltrona D16 stanza indaco

Nella camera (n.007) del day hospital le superfici identificate sono:

- la pompe di infusione e l'asta porta flebo in corrispondenza del letto n.008 ;
- la porzione di pavimento sottostante l'asta portaflebo;
- la porzioni di pavimento nei servizi igienici.

Figura 7. 2 Posizione dei locali esaminati nell'ambito del reparto somministrazione struttura A

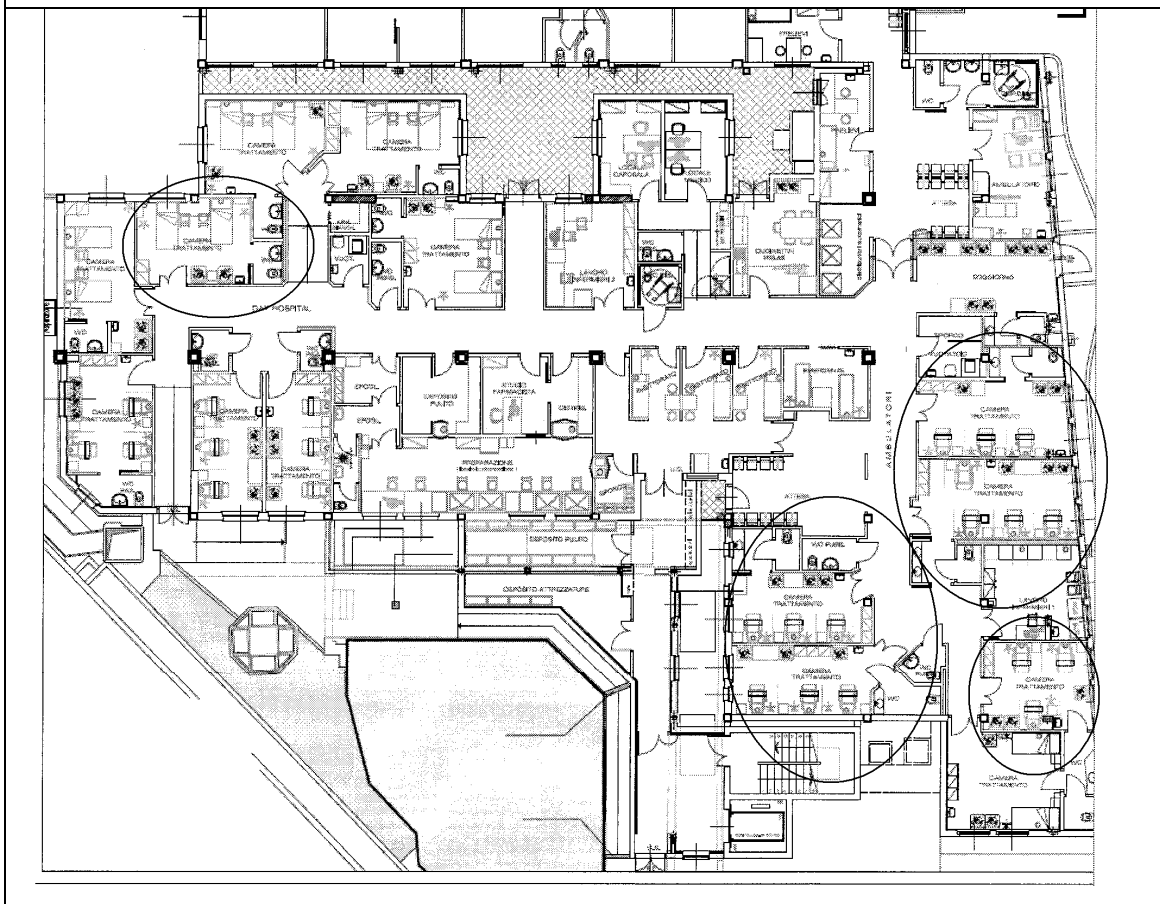


Tabella 7.4 - Valori di contaminazione misurati nei locali della zona somministrazione (struttura A)

ID Camp.	Posizione Campionamento	Vol (ml)	Area (m ²)	5-FU ^a (µg/m ²)	GCA (µg/m ²)
S1	Telino poltrona A1	100	1,1	0 ^b	8
S2	Asta porta flebo della poltrona A1	20	0,05	30	300
S3	Pavimento Poltrona/asta A1	50	1,6	0 ^b	0 ^b
S4	Superficie poltrona A1	20	0,8	0 ^b	0 ^b
S5	Telino poltrona B7	100	1,1	0 ^b	0 ^b
S6	Asta porta flebo della poltrona B7	20	0,05	35	201
S7	Pavimento Poltrona/asta B7	50	1,6	0 ^b	0 ^b
S8	Superficie poltrona B7	20	0,8	0 ^b	0 ^b
S9	Telino poltrona C10	100	1,1	0 ^b	0 ^b
S10	Asta porta flebo della poltrona C10	20	0,05	13	148
S11	Pavimento Poltrona/asta C10	50	1,6	0 ^b	0 ^b
S12	Superficie poltrona C10	20	0,8	0 ^b	0 ^b
S13	4 vaschette porta infusioni	50	0,3	0 ^b	0 ^b
S14	Pompa infusione letto stanza 007	20	0,1	0 ^b	0 ^b
S15	Asta porta flebo letto stanza 007	20	0,05	0 ^b	0 ^b
S16	Pavimento sotto l'asta stanza 007	20	0,4	0 ^b	0 ^b
S17	Pavimento bagno stanza 007	20	0,4	0 ^b	0 ^b
S18	Telino poltrona D16	100	1,1	0 ^b	0 ^b
S19	Asta portta flebo della poltrona D16	20	0,05	0 ^b	0 ^b
S20	Pavimento Poltrona/asta D16	50	1,6	0 ^b	0 ^b
S21	Superficie poltrona D16	20	0,8	0 ^b	0 ^b
S22	Telino poltrona E17	100	1,1	0 ^b	0 ^b
S23	Asta porta flebo della poltrona E17	20	0,05	0 ^b	0 ^b
S24	Pavimento Poltrona/asta E17	50	1,6	0 ^b	0 ^b
S25	Superficie poltrona E17	20	0,8	0 ^b	0 ^b
	Numero campioni risultati superiori al LoC			3/25	4/25
	Numero campioni risultati positivi ad almeno un farmaco			4/25	

Abbreviazioni: 5FU= 5-Fluoruracile, GCA= Gemcitabina,

NOTE:

^a = farmaco non somministrato il giorno del campionamento; ^b 0 = inferiore al LoC

LoC= limite minimo di rilevabilità della contaminazione; LoC = 1µg/m²

7.3.1 Risultati del monitoraggio della contaminazione da CA nel locale somministrazione struttura A

Dall'analisi dei singoli valori riportati in Tabella 7.4 si evince che su un totale di 25 campioni prelevati, 4 sono risultati positivi per la presenza di almeno uno dei due traccianti, con una frequenza di valori misurati per ogni singolo farmaco espressa sul totale dei campioni pari a 3/25 per 5-FU; 4/25 per GCA.

Più in dettaglio i campioni S2, S6, S10 mostrano valori di contaminazione per il tracciante 5-FU compresi nell'intervallo da 10 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ a 40 $\mu\text{g}/\text{m}^2$, da 100 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ a 300 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ per GCA. Il rimanente campione (S1) mostra un valore di contaminazione per il solo tracciante GCA, inferiore a 10 $\mu\text{g}/\text{m}^2$.

L'entità della contaminazione è risultata omogenea in tutte le stanze esaminate e risulta essere praticamente assente e del tutto trascurabile sulla maggior parte delle superfici.

La contaminazione riscontrata sulle superfici delle aste e delle pompe d'infusione (campioni S2, S6, S10) risulta apprezzabile e riconducibile ad un modesto e verosimilmente estemporaneo sversamento per quanto riguarda la GCA. È da notare che per il giorno del campionamento era stato esplicitamente richiesto di non pulire tutte le superfici e tutti gli arredi presenti nei locali per tutto il tempo delle operazioni di somministrazione delle terapie. La presenza della lieve contaminazione da 5-FU, farmaco non somministrato il giorno del campionamento, mostra come sia necessario migliorare l'efficacia e la frequenza giornaliera delle procedure di pulizia delle aste e delle pompe di infusione al termine di ogni operazione di somministrazione.

7.4. Descrizione della contaminazione in quattro locali preparazione farmaci - struttura A

Data la complessità logistica e l'estensione della struttura, l'unità centralizzata di preparazione farmaci investigata non è utilizzabile per la totale copertura delle chemioterapie richieste dai diversi reparti. Si è resa necessaria la valutazione della contaminazione da CA nei locali preparazione dei reparti di seguito specificati:

- **Medicina Oncologica;**
- **Unità di Trapianto del Midollo Osseo Ematologia;**
- **Medicina Generale;**
- **Unità Day Hospital.**

L'assetto dei locali oggetto dell'indagine è normalmente simile e, fatta eccezione per la medicina oncologica che ne è sprovvista, le farmacie dei reparti sono precedute da un locale filtro che immette nel locale di preparazione farmaci. Le superfici più idonee su cui effettuare la misura della contaminazione da CA nelle quattro zone preparazione sono state così identificate:

- le superfici interne delle cappe utilizzate il giorno del campionamento per la preparazione delle terapie antitumorali
- le porzioni del pavimento in prossimità delle cappe;
- le superfici degli arredi presenti nei locali 'cappa': scrivanie, ante armadi, PC, piano dei banconi da laboratorio, i vetri delle finestre;
- le porzioni di pavimento dei locali filtro;
- le porzioni di pavimento esterno ai locali della zona preparazione;

Nelle Tabelle 7.5,7,9,11 sono riportati i dati relativi alle quantità di CA preparate da ciascuna area di preparazione relativamente al mese immediatamente precedente il campionamento, la settimana del campionamento ed infine il giorno in cui sono stati effettuati i prelievi. Nelle Tabelle 7.6,8,10,12 sono riportate per ciascuna zona preparazione le posizioni dei punti di campionamento ed i corrispondenti risultati analitici. Come si evince dalle abbondanze relative mostrate nelle tabelle, i tre glucoside analoghi (5 FU, GEM, CYA) sulla base delle quantità utilizzate mensilmente e settimanalmente, sono stati selezionati fra i più idonei ('traccianti') per descrivere in termini sintetici la disseminazione ambientale della contaminazione sulle superfici di lavoro dei locali delle zone preparazione. Nel complesso delle quattro zone indagate sono stati prelevati un totale di 32 campioni ed eseguite un totale di 96 determinazioni analitiche.

7.4.1. Zona preparazione Medicina Oncologica

Dall'esame dei valori singoli riportati in Tabella 7.6 risulta che su un totale di 12 campioni prelevati nella zona di preparazione, 6 sono positivi per la presenza di almeno uno dei tre traccianti, con una frequenza per ogni singolo farmaco espressa sul totale dei campioni pari a: 5-FU: 0/12; GCA: 6/12; CYA: 2/12 campioni. È da notare che durante il giorno del campionamento e nei cinque giorni lavorativi immediatamente precedenti i farmaci 5-FU e CYA non sono stati impiegati nelle preparazioni delle terapie.

In particolare:

- le superfici corrispondenti ai campioni F25, F26, F27, F31, F32 risultano contaminate da GCA con valori compresi tra $15 \mu\text{g}/\text{m}^2$ e $25 \mu\text{g}/\text{m}^2$;
- la superficie interna della cappa (F21) mostra un valore di contaminazione di $46 \mu\text{g}/\text{m}^2$, per la CYA e di $3 \mu\text{g}/\text{m}^2$ per la GCA.

La tabella 7.13 mostra che il valore medio della contaminazione per il tracciante GCA è inferiore a $10 \mu\text{g}/\text{m}^2$ mentre per la CYA risulta inferiore a $1 \mu\text{g}/\text{m}^2$.

I valori osservati mostrano la presenza di limitata contaminazione sotto cappa e di disseminazione della stessa sia nell'ambiente circostante la cappa sia all'esterno dei locali della zona preparazione.

Tabella 7.5 - Medicina Oncologica. Quantitativi (g) dei farmaci (5-FU; GCA, CYA) preparati nel periodo Maggio/Giugno 2010, dal 7 Giugno al 10 Giugno e l' 11 Giugno, giorno del campionamento.

Mese	7 Maggio/ 7Giugno 2010		
Farmaco	Quantità Preparata (g)	Quantità totale di FCA preparati (g)	<u>Quantità Preparata</u> Quantità totale (%)
Fluorouracile (5-FU)	0	267	0
Gemcitabina (GCA)	3,5		1%
Citarabina (CYA)	197,4		73%
Settimana	Dal 7 Giugno al 10 Giugno 2010		
Farmaco	Quantità Preparata (g)	Quantità totale di FCA preparati (g)	<u>Quantità Preparata</u> Quantità totale (%)
Fluorouracile (5-FU)	0	1,7	0
Gemcitabina (GCA)	0		0
Citarabina (CYA)	0		0
Giorno	11 Giugno 2010		
Farmaco	Quantità Preparata (g)	Quantità totale di FCA preparati (g)	<u>Quantità Preparata</u> Quantità totale (%)
Fluorouracile (5-FU)	0	1,6	0
Gemcitabina (GCA)	1,4		87%
Citarabina (CYA)	0		0

Tabella 7.6 - Valori di contaminazione misurati nel reparto Medicina Oncologica

ID Camp	Posizione	Vol. (mL)	Area (m²)	5FU^a (µg/m²)	CYA^a (µg/m²)	GCA (µg/m²)
F21	Cappa in uso	50	1,25	0 ^b	46	3
F22	Pavimento cappa in uso	50	0,68	0 ^b	0 ^b	0 ^b
F23	Superficie scrivania dx cappa	20	1,55	0 ^b	0 ^b	0 ^b
F24	Armadio sx cappa	20	0,43	0 ^b	0 ^b	0 ^b
F25	Sgabello davanti cappa	20	0,17	0 ^b	0 ^b	16
F26	Coperchio portarifiuti	20	0,13	0 ^b	18	19
F27	Anta armadio grigio	20	1,16	0 ^b	0 ^b	10
F28	Vetro finestra interno	20	0,66	0 ^b	0 ^b	0 ^b
F29	Vetro finestra esterno	20	0,66	0 ^b	0 ^b	0 ^b
F30	Piastrelle pavimento ambulatorio	20	0,50	0 ^b	0 ^b	0 ^b
F31	Piastrelle pavimento ambulatorio	20	0,50	0 ^b	0 ^b	17
F32	Piastrelle pavimento ambulatorio	20	0,50	0 ^b	0 ^b	21
	Numero campioni risultati superiori al LoC			0/12	2/12	6/12
	Numero campioni risultati positivi ad almeno un farmaco			6/12		

Abbreviazioni: 5FU= 5-Fluoruracile, GCA= Gemcitabina, CYA= Citarabina,
NOTE: ^a = farmaco non utilizzato nei cinque giorni lavorativi precedenti il campionamento e nella giornata del campionamento; misurato ai fini di controllo negativo per verificare l'efficacia delle operazioni di decontaminazione.
^b 0 = inferiore al LoC
LoC= limite minimo di rilevabilità della contaminazione, LoC 5-FU, LoC GCA, LoC CYA = 1 µg/m²

7.4.2. Unità di Trapianto del Midollo Osseo Ematologia

Dall'esame dei valori singoli riportati in Tabella 7.8 risulta che su un totale di 9 campioni prelevati nella zona di preparazione, 3 sono positivi per la presenza di almeno uno dei tre traccianti, con una frequenza di valori misurati per ogni singolo farmaco espressa sul totale dei campioni pari a: 5-FU: 0/9; GCA: 0/9; CYA: 3/9 campioni. È da notare che durante il giorno del campionamento e nei cinque giorni lavorativi immediatamente precedenti i farmaci 5-FU e GCA non sono stati impiegati nelle preparazioni delle terapie. In particolare:

- per la CYA le superfici del pavimento vicino alla cappa (F8) e del pavimento del locale filtro (F10) mostrano valori di contaminazione inferiori a $10 \mu\text{g}/\text{m}^2$; la superficie interna della cappa (F7) mostra un valore di contaminazione pari a $16 \mu\text{g}/\text{m}^2$.

La tabella 7.13 mostra che il valore medio della contaminazione per il tracciante CYA è inferiore a $10 \mu\text{g}/\text{m}^2$.

Dai valori riportati risulta che l'entità della contaminazione è praticamente assente e del tutto trascurabile sotto cappa e su tutte le altre superfici indagate.

Tabella 7.7 Unità di Trapianto del Midollo Osseo Ematologia. Quantitativi (g) dei farmaci (5-FU; GCA, CYA) preparati nel periodo maggio/giugno 2010, dal 7 giugno al 10 giugno e il giorno del campionamento.

Mese	7 Maggio/ 7Giugno 2010		
Farmaco	Quantità Preparata (g)	Quantità totale di FCA preparati (g)	Quantità Preparata Quantità totale (%)
Fluorouracile (5-FU)	0	374	0
Gemcitabina (GCA)	0		0
Citarabina (CYA)	7		2%
Settimana	Dal 7 Giugno al 10 Giugno 2010		
Farmaco	Quantità Preparata (g)	Quantità totale di FCA preparati (g)	Quantità <u>Preparata</u> Quantità totale (%)
Fluorouracile (5-FU)	0	2	0
Gemcitabina (GCA)	0		0
Citarabina (CYA)	0		0
Giorno	11 Giugno 2010		
Farmaco	Quantità Preparata (g)	Quantità totale di FCA preparati (g)	Quantità <u>Preparata</u> Quantità totale (%)
Fluorouracile (5-FU)	0	3,5	0
Gemcitabina (GCA)	0		0
Citarabina (CYA)	3		85%

Tabella 7.8 - Valori di contaminazione misurati nella Unità di Trapianto del Midollo Osseo Ematologia

ID Camp	Posizione	Vol. (mL)	Area (m ²)	5FU ^a (µg/m ²)	CYA (µg/m ²)	GCA ^a (µg/m ²)
F7	Cappa in uso	50	1,46	0 ^b	16	0 ^b
F8	Pavimento cappa in uso	50	1,07	0 ^b	7	0 ^b
F9	Sedia per seduta davanti cappa in uso	20	0,38	0 ^b	0 ^b	0 ^b
F10	Pavimento locale filtro	20	0,72	0 ^b	9	0 ^b
F11	Armadio farmaci (parete)	20	0,82	0 ^b	0 ^b	0 ^b
F12	Cassone Cappa in uso	50	0,40	0 ^b	0 ^b	0 ^b
F13	Superficie coperchio bidone rifiuti	20	0,13	0 ^b	0 ^b	0 ^b
F14	Asta nel locale	20	0,05	0 ^b	0 ^b	0 ^b
F15	Anta frigorifero	20	1,20	0 ^b	0 ^b	0 ^b
	Numero campioni risultati superiori al LoC			0/9	3/9	0/9
	Numero campioni risultati positivi ad almeno un farmaco			3/9		

Abbreviazioni: 5FU= 5-Fluoruracile, GCA= Gemcitabina, CYA= Citarabina,

NOTE:

^a = farmaco non utilizzato nei cinque giorni lavorativi precedenti il campionamento e nella giornata del campionamento; misurato ai fini di controllo negativo per verificare l’efficacia delle operazioni di decontaminazione.

^b 0 = inferiore al LoC

LoC= limite minimo di rilevabilità della contaminazione, LoC 5-FU, LoC GCA, LoC CYA = 1µg/m²

7.4.3. Unità Day Hospital

Dai valori singoli riportati in Tabella 7.10 risulta che, su un totale di 6 campioni prelevati nella zona di preparazione, 3 sono positivi per la presenza di almeno uno dei tre traccianti, con una frequenza per ogni singolo farmaco espressa sul totale dei campioni pari a: 5-FU: 3/6; GCA: 3/6; CYA: 0/6 campioni. È da notare che nei cinque giorni lavorativi immediatamente precedenti il campionamento il farmaco CYA non era stato impiegato nelle preparazioni delle terapie. In particolare:

- per la GCA la superficie della seduta dello sgabello (F3) mostra un valore di contaminazione di 248 µg/m² mentre la superficie del pavimento (F2) mostra per lo stesso tracciante un valore di 10 µg/m²;
- per il 5-FU la superficie della seduta dello sgabello (F3) mostra un valore di contaminazione di 22 µg/m² mentre la superficie del pavimento (F2) mostra per lo stesso tracciante un valore di 4 µg/m²;
- la superficie interna della cappa (F1) mostra un valore di contaminazione pari a 23 µg/m², per il farmaco GCA e di 6 µg/m² per il 5-FU.

La tabella 7.13 mostra che il valore medio della contaminazione per il 5-FU e per la CYA è inferiore a $10 \mu\text{g}/\text{m}^2$. Superiore a $10 \mu\text{g}/\text{m}^2$ risulta invece il valore medio di contaminazione per il tracciante GCA.

Tutto ciò descrive la presenza di contaminazione in tracce sotto cappa e l'esistenza di apprezzabile disseminazione della contaminazione nell'ambiente circostante la cappa. Anche in questo caso è molto probabile che la contaminazione del campione F3 coincida con uno sversamento accidentale dell'operatore che ha generato un dato tra 10 e 20 volte superiore rispetto a quelli registrati per gli altri campioni "positivi".

Tabella 7.9 Unità Day Hospital. Quantitativi (g) dei farmaci (5-FU; GCA, CYA) preparati nel periodo maggio/giugno 2010, dal 7 giugno al 11 giugno.

Mese	7 Maggio/ 7Giugno 2010		
Farmaco	Quantità Preparata (g)	Quantità totale di FCA preparati (g)	<u>Quantità Preparata</u> <u>Quantità totale</u> (%)
Fluorouracile (5-FU)	70	132	53%
Gemcitabina (GCA)	17		12%
Citarabina (CYA)	0		0
Settimana	Dal 7 Giugno al 11 Giugno 2010		
Farmaco	Quantità Preparata (g)	Quantità totale di FCA preparati (g)	<u>Quantità Preparata</u> <u>Quantità totale</u> (%)
Fluorouracile (5-FU)	30	35	85%
Gemcitabina (GCA)	4		11%
Citarabina (CYA)	0		0
N.B Non sono disponibili i dati dei FCA preparati il giorno del campionamento			

Tabella 7.10 Valori di contaminazione misurati nell'Unità Day Hospital

ID Cam p	Posizione	Vol. (mL)	Area (m ²)	5FU (μg/m ²)	CYA ^a (μg/m ²)	GCA (μg/m ²)
F1	Cappa in uso	50	1,85	6	0 ^b	23
F2	Pavimento cappa in uso	50	1,22	4	0 ^b	10
F3	Sgabello	20	0,36	22	0 ^b	248
F4	Maniglia frigorifero	20	0,01	0 ^b	0 ^b	0 ^b
F5	Pavimento filtro	20	1,20	0 ^b	0 ^b	0 ^b
F6	Finestra	20	0,50	0 ^b	0 ^b	0 ^b
	Numero campioni risultati >al LoC			3/6	0/6	3/6
	3/6					
Abbreviazioni: 5FU= 5-Fluoruracile, GCA= Gemcitabina, CYA= Citarabina, NOTE: ^a = farmaco non utilizzato nei cinque giorni lavorativi precedenti il campionamento.; misurato ai fini di controllo negativo per verificare l'efficacia delle operazioni di decontaminazione. ^b 0 = inferiore al LoC LoC= limite minimo di rilevabilità della contaminazione, LoC 5-FU, LoC GCA, LoC CYA = 1μg/m ²						

7.4.4. Medicina Generale

Le posizioni di campionamento (F16 - F20) e i risultati del monitoraggio relativi alla misura dei 3 farmaci traccianti (5-FU, GCA e CYA) in ogni campione sono riportati nella Tabella 7.12.

È da notare che durante il giorno del campionamento nessuno dei tre farmaci traccianti è stato impiegato nella preparazione delle terapie. La sola superficie interna della cappa (F16) risulta contaminata dal farmaco GCA e mostra un valore di contaminazione di $43 \mu\text{g}/\text{m}^2$, il valore medio della contaminazione per lo stesso tracciante risulta di conseguenza molto basso e inferiore a $1 \mu\text{g}/\text{m}^2$. In questo caso non si può esprimere un giudizio esaustivo sul livello di contaminazione del locale investigato, vista la scarsa quantità di farmaci traccianti manipolati nel reparto. Tuttavia è possibile ipotizzare una disseminazione all'interno della cappa migliorabile, avendo riscontrato un livello di contaminazione ($43 \mu\text{g}/\text{m}^2$) puntuale, significativamente più alto del limite di rivelabilità su un farmaco non impiegato.

Tabella 7.11 Medicina Generale. Quantitativi (g) dei farmaci (5-FU; GCA, CYA) preparati nel periodo maggio/giugno 2010, dal 7 giugno al 11 giugno e il giorno del campionamento.

Mese	7 Maggio/ 7Giugno 2010		
Farmaco	Quantità Preparata (g)	Quantità totale di FCA preparati (g)	<u>Quantità Preparata</u> <u>Quantità totale</u> (%)
Fluorouracile (5-FU)	0	36	0
Gemcitabina (GCA)	4,2		11%
Citarabina (CYA)	0		0
Settimana	Dal 7 Giugno al 10 Giugno 2010		
Farmaco	Quantità Preparata (g)	Quantità totale di FCA preparati (g)	<u>Quantità Preparata</u> <u>Quantità totale</u> (%)
Fluorouracile (5-FU)	0	7	0
Gemcitabina (GCA)	1,4		20%
Citarabina (CYA)	0		0
Giorno	11 Giugno 2010		
Farmaco	Quantità Preparata (g)	Quantità totale di FCA preparati (g)	<u>Quantità Preparata</u> <u>Quantità totale</u> (%)
Fluorouracile (5-FU)	0	0	0
Gemcitabina (GCA)	0		0
Citarabina (CYA)	0		0

Tabella 7.12 Valori di contaminazione misurati nel reparto di Medicina Generale.

ID Camp	Posizione	Vol. (mL)	Area (m ²)	5FU ^a (µg/m ²)	CYA ^a (µg/m ²)	GCA ^a (µg/m ²)
F16	Cappa in uso	50	1,61	0 ^b	0 ^b	43
F17	Pavimento cappa in uso	50	2,22	0 ^b	0 ^b	0 ^b
F18	Anta frigorifero	20	0,38	0 ^b	0 ^b	0 ^b
F19	Cassone Cappa in uso	20	0,23	0 ^b	0 ^b	0 ^b
F20	Pavimento locale filtro	20	0,75	0 ^b	0 ^b	0 ^b
	Numero campioni risultati superiori al LoC			0/5	0/0	1/5
	1/5					
Abbreviazioni: 5FU= 5-Fluoruracile, GCA= Gemcitabina, CYA= Citarabina, NOTE: ^a farmaco non utilizzato nella giornata del campionamento =; misurato ai fini di controllo negativo per verificare l'efficacia delle operazioni di decontaminazione. ^b 0 = inferiore al LoC LoC= limite minimo di rilevabilità della contaminazione; LoC 5-FU, LoC GCA, LoC CYA = 1µg/m ²						

Tabella 7.13. Valore medio dell'entità della contaminazione da 5-FU, GCA e CYA calcolato per ogni singola zona di preparazione.

Unità Day hospital	5-FU	GCA	CYA
Massa totale del farmaco (µg) misurata nei campioni da F2 a F6 ^a	13,3	101,4	11,6
Somma superfici campionate (m ²)	3,29	3,29	3,29
Valore medio di contaminazione (µg/m²)^c	4,1	30,9	3,5
Unità di Trapianto del Midollo Osseo Ematologia	5-FU	GCA	CYA
Massa totale del farmaco (µg) misurata nei campioni da F8 a F15 ^a	2,5	0	15,8
Somma superfici campionate (m ²)	4,77	4,77	4,77
Valore medio di contaminazione (µg/m²)^c	0,5	0	3,3
Medicina Generale.	5-FU	GCA	CYA
Massa totale del farmaco (µg) misurata nei campioni da F17 a F21 ^a	4,15	0	0
Somma superfici campionate (m ²)	4,44	4,44	4,44
Valore medio di contaminazione (µg/m²)^c	0,9	0	0
Medicina Oncologica	5-FU	GCA	CYA
Massa totale del farmaco (µg) misurata nei campioni da F22 a F32	0	36,1	2,4
Somma superfici campionate (m ²)	6,94	6,94	6,94
Valore medio di contaminazione (µg/m²)^c	0	5,2	0,3

NOTE:

^a la **massa totale** di un singolo farmaco è data dalla somma delle quantità (in microgrammi) del farmaco ,ritrovate nei campioni relativi alle superfici indagate (esclusa la sup.relativa alla cappa) nella zona indicata.

^c valore calcolato come rapporto tra la massa totale del farmaco tracciante misurato e la somma della estensione delle superfici campionate nella zona indicata, esclusa la superficie della cappa.

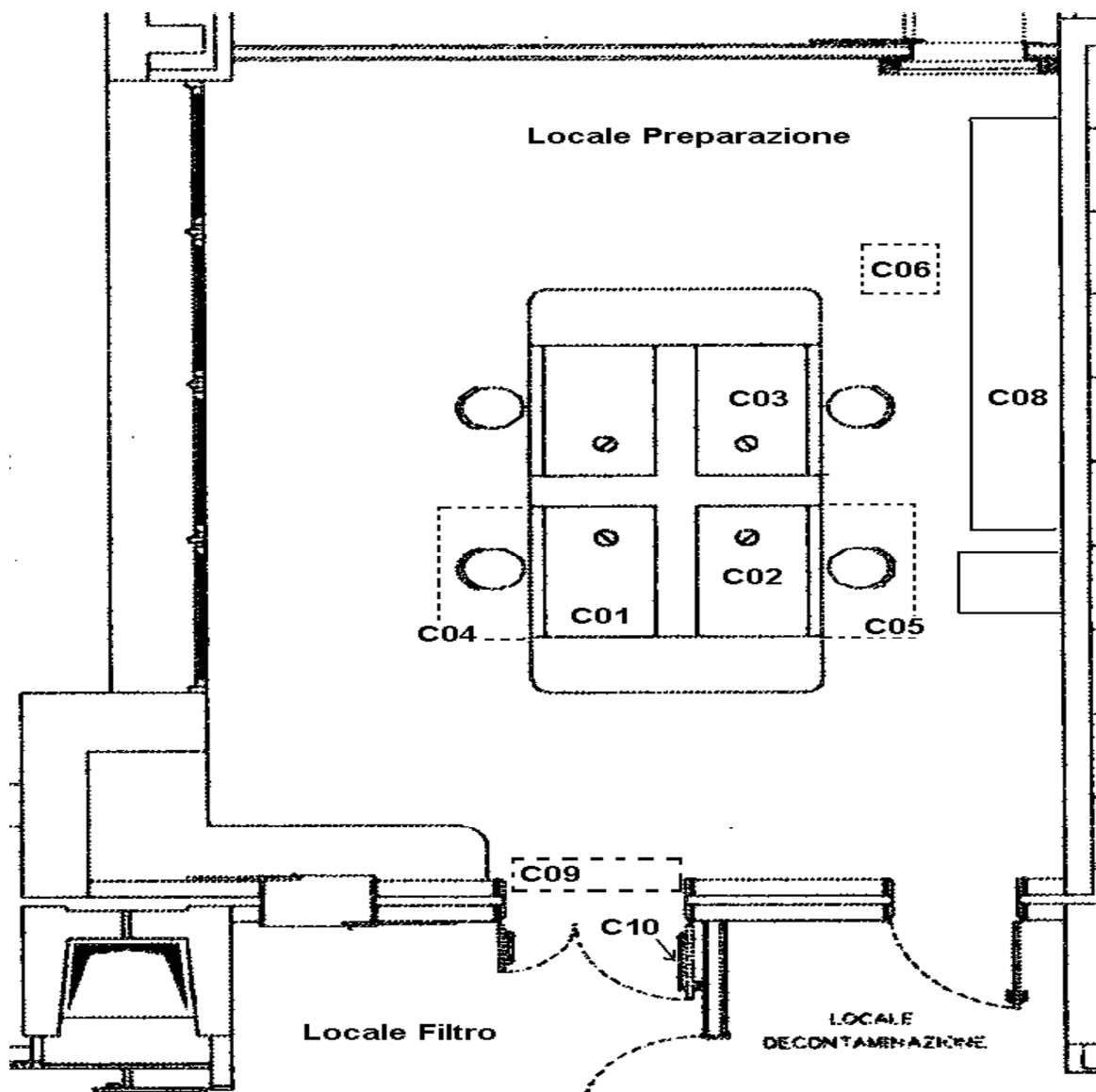
7.5. Descrizione della contaminazione nell' Unità Farmaci Antiblastici - struttura B

La struttura dell'unità farmaci antiblastici (U.F.A) si compone di cinque vani: ufficio del personale, locale adibito al deposito farmaci, locale filtro, locale preparazioni farmaci chemioterapici e locale decontaminazione.

Nell' ambito di quest'indagine sono state prese in esame una stanza del blocco degenze al secondo piano (stanza n.7) e tre stanze dedicate alle terapie in regime di day hospital ubicate al primo piano (stanze n.1,2 e 26). Le stanze del day hospital sono di ampie dimensioni e sono arredate con diverse poltrone equipaggiate di aste porta flebo e pompe d'infusione per la somministrazione delle terapie.

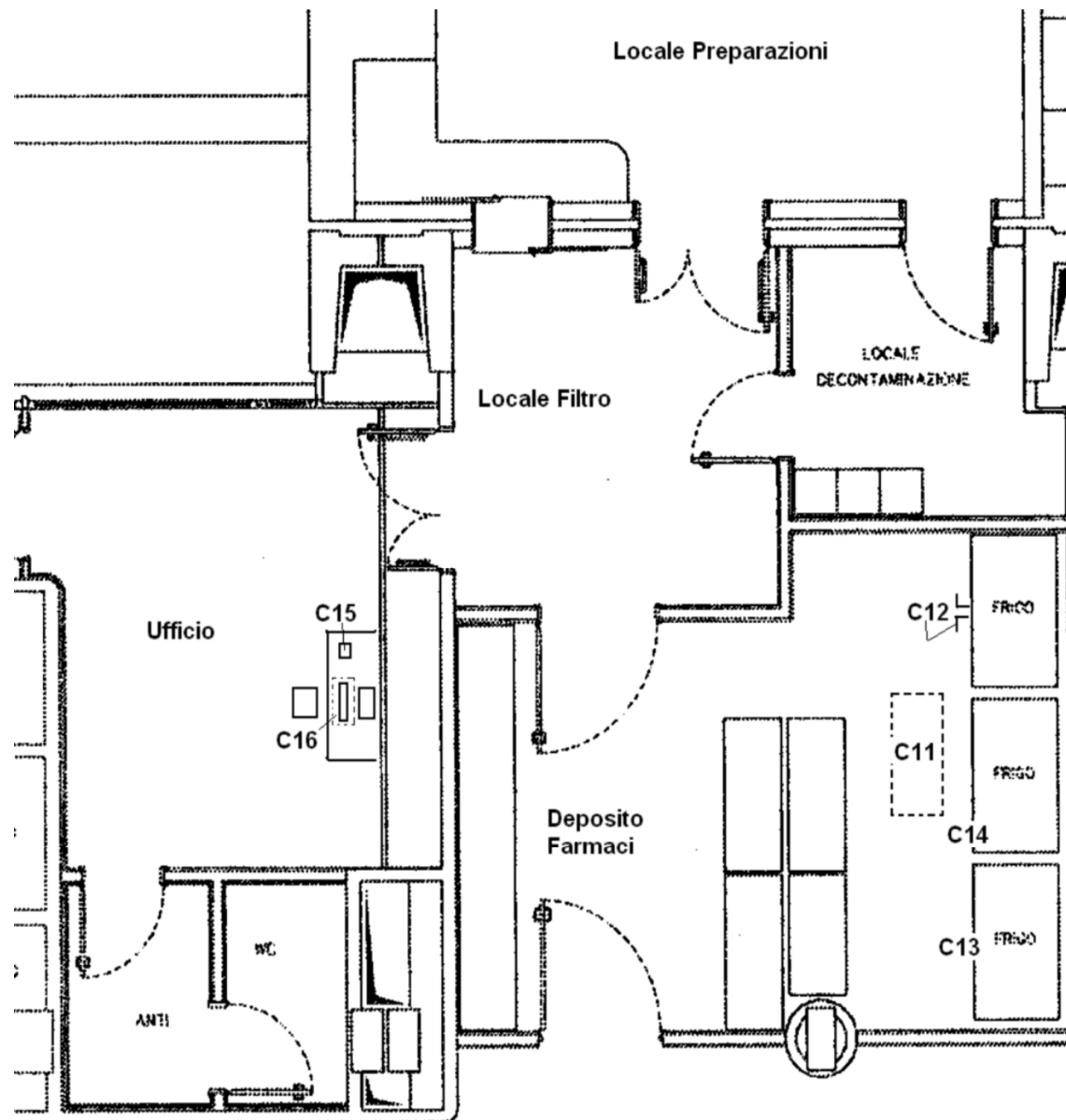
L'indagine ha comportato la misura della contaminazione da CA presente su superfici specifiche dell' U.F.A e dei locali somministrazione, descritte in dettaglio nelle tabelle annesse alle figure 7.3 -7.5

Figura 7.3 Assetto generale nel locale preparazioni, con riferimento alla posizione degli arredi e delle suppellettili e rappresentazione dei punti di campionamento (13 marzo 2009).



Punto di campionamento	Descrizione	Area campionata(m ²)	Note
C01	Cappa davanti finestra vicino porta	0,88	superf. inox
C02	Cappa davanti frigorifero	0,79	superf. inox
C03	Cappa davanti bancone	0,79	superf. inox
C04	Pavimento davanti cappa	1,26	laminato plastico
C05	Pavimento davanti cappa	1,43	laminato plastico
C06	Pavimento davanti bancone	1,00	laminato plastico
C07	Scatole porta preparazioni	0,08	plastica
C08	Bancone	1,44	laminato plastico
C09	Pavimento davanti porta ingresso	0,55	laminato plastico
C10	Maniglia porta antipanico	0,47	plastica

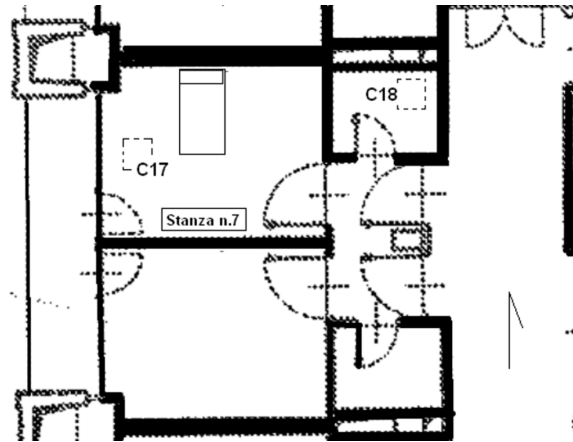
Figura 7.4 Assetto generale dei locali deposito farmaci, filtro ed ufficio, con riferimento alla posizione degli arredi e delle suppellettili e rappresentazione dei punti di campionamento (13 marzo 2009).



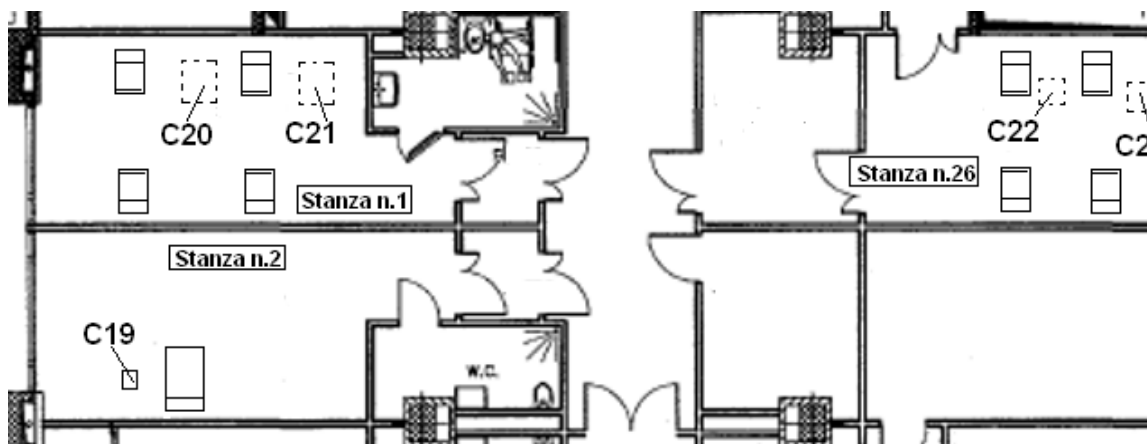
Punto di campionamento	Descrizione	Area campionata (m ²)	Note
C11	Pavimento davanti frigorifero	1,00	laminato plastico
C12	Maniglie esterne frigoriferi	0,10	plastica
C13	Anta frigorifero	1,04	laminato plastico
C14	Anta frigorifero	1,04	laminato plastico
C15	Telefono	0,03	plastica
C16	Scrivania	0,25	laminato plastico

Figura 7.5 Assetto generale nei locali somministrazione con riferimento alla posizione degli arredi e delle suppellettili e rappresentazione dei punti di campionamento (13 marzo 2009).

Blocco degenze secondo piano, stanza n.7



Day Hospital primo piano, Stanze n.1,2,26



Punto di campionamento	Descrizione	Area campionata(m ²)	Note
C17	Stanza n. 7- Il piano, pavimento a sx del letto vicino alla finestra	1	Laminato plastico
C18	Stanza n. 7- Il piano, pavimento servizi igienici	1	Laminato plastico
C19	Stanza n. 2 Day Hospital, pompa infusione + asta	0,1	plastica
C20	Stanza n. 1 Day Hospital, Pavimento tra 2 poltrone lato finestra	1	Laminato plastico
C21	Stanza n. 1 Day Hospital, Pavimento tra 2 poltrone lato porta	1	Laminato plastico
C22	Stanza n. 26 Day Hospital, Pavimento tra 2 poltrone lato finestra	1	Laminato plastico
C23	Stanza n. 26 Day Hospital Pavimento tra 2 poltrone lato porta	1	Laminato plastico

7.5.1. Unità Farmaci Antiblastici

- le superfici interne delle cappe (il giorno del campionamento per la preparazione delle terapie antitumorali sono state impiegate tre cappe su quattro)
- 3 porzioni del pavimento in prossimità delle cappe;
- la superficie del bancone collocato nel locale preparazione dell'U.F.A;
- le superfici delle ante e delle maniglie dei tre frigoriferi ubicati nel locale deposito dell'UFA;
- le superfici del piano della scrivania e del telefono collocati nell'ufficio dell'U.F.A;
- le superfici esterne delle scatole per il trasporto delle preparazioni;

7.5.2. Locali dedicati alla somministrazione delle terapie

- la pompa di infusione collocata nella stanza n.2 del day hospital al primo piano;
- le porzioni di pavimento antistanti le poltrone di somministrazione collocate nelle stanze n.1, n.26 del day-hospital (primo piano)
- le porzioni di pavimento vicino al letto e dei servizi igienici nella stanza degenza n.7 al secondo piano.

In sede di sopralluogo preliminare è stato concordato con rappresentanti dell'U.F.A. e del Servizio di Prevenzione di modificare il piano di campionamento, rispetto alle richieste dell'Ente formulate nelle richiesta di fornitura, in modo da evitare l'analisi di campioni prelevati in situazioni di evidente e concordata irrilevanza (locali somministrazione non utilizzati o già igienizzati) e, al contrario, di verificare la sussistenza di una potenziale esposizione del personale in specifiche circostanze che non erano state, inizialmente, prese in considerazione. Questa modifica al protocollo di campionamento inizialmente pianificato ha comportato l'analisi di un numero superiore di campioni (31 rispetto ai 22 richiesti). Sono stati infatti campionati i coperchi di quattro contenitori monouso 'Alipak' per rifiuti pericolosi (il campionamento è stato effettuato sia sulla superficie esterna sia su quella interna di ciascuna unità per un totale di otto campioni) al fine di verificare se il contatto all'atto dell'eliminazione dei rifiuti ospedalieri può comportare rischio d'esposizione del personale.

7.5.3. Farmaci impiegati come traccianti della contaminazione

I farmaci misurati nei campioni raccolti sono i seguenti: 5-Fluorouracile (5-FU), Gemcitabina (GCA), Cisplatino (CDDP), Metotrexato (MTX), Epirubicina (EPI), Dacarbazina (DAC), Ifosfamide (IFO) e Vinorelbina (VIN).

L'U.F.A. ha fornito le informazioni sulla natura e sulle quantità dei CA preparati nel mese antecedente, nella settimana (Lunedì-Giovedì) e nel giorno (Venerdì) nel quale è stato effettuato il campionamento. Le tabelle 7.14-7.16 riportano i dati relativi alle quantità dei principali farmaci utilizzati e le relative frazioni percentuali sul totale.

Dei 43 differenti principi attivi impiegati nel mese, che includono oltre ai farmaci antineoplastici anche alcuni farmaci di supporto e anticorpi monoclonali, i principali rappresentano complessivamente il 78% della quantità totale manipolata.

Nei 4 giorni lavorativi (Lunedì-Giovedì) in cui l'unità farmaci antitumorali ha svolto l'attività di preparazione delle terapie, dei 41 differenti principi attivi impiegati, le quantità manipolate dei principali farmaci antitumorali ammontano complessivamente al 72% del totale. Nel giorno del campionamento si è scesi a 32 farmaci impiegati con una rappresentatività dei traccianti scelti del 58% rispetto al totale impiegato.

Nel periodo considerato i farmaci, 5FU, GCA ed IFO rappresentano su base mensile complessivamente il 70% circa del totale dei farmaci utilizzati.

I farmaci EPI, MTX, DAC, sono impiegati in quantità di almeno un ordine di grandezza inferiore e rappresentano complessivamente circa il 2-3 % del totale dei farmaci utilizzati su base mensile o settimanale. Il farmaco VIN è impiegato in quantità largamente inferiori (2 grammi al mese) e solo saltuariamente.

Il farmaco CDDP è impiegato in quantità di circa 8 grammi al mese, in proporzioni egualmente inferiori rispetto ai farmaci più abbondantemente utilizzati. Al contrario il farmaco CYA, di cui non era stata richiesta la misura, è stato impiegato in quantità elevata (il quarto in ordine crescente di quantità utilizzata nel mese precedente). Di conseguenza è stato misurato in luogo del previsto CDDP anche se non utilizzato per le terapie nella settimana del campionamento

Tabella 7.14 - Quantitativi (in grammi) dei farmaci antineoplastici preparati dall'Unità Farmaci antitumorali nel mese antecedente il giorno del campionamento. **Febbraio – Marzo 2009**

<i>Farmaco</i>	<i>Quantità Preparata (g)</i>	<i>Quantità totale di FCA preparati (g)</i>	<i>Quantità Preparata / Quantità totale (%)</i>
Fluorouracile (5-FU)	493	1445g	34 %
Ifosfamide (IFO)	299		20 %
Gemcitabina (GCA)	214		15 %
Citarabina (CYA)	65		5 %
Cisplatino (CYS)	8		0,5%
Metotrexato (MTX)	6		0,4%
Epirubicina (EPI)	10		0,7%
Dacarbazina (DAC)	24		2 %
Vinorelbina (VIN)	2		0,1%

Tabella 7.15 - Quantitativi (in grammi) dei farmaci antineoplastici preparati dall'Unità Farmaci antiblastici nel periodo **9-12 marzo 2009**

Farmaco	Quantità Preparata (g)	Quantità totale di FCA preparati (g)	Quantità Preparata Quantità totale (%)
Fluorouracile (5-FU)	172	389g	44%
Gemcitabina (GCA)	69		18%
Cispaltino (CYS)	2		0,5%
Metotrexato (MTX)	0,6		0,1%
Epirubicina (EPI)	1		0,3%
Dacarbazina (DAC)	2		0.5%
Ifosfamide (IFO)	29		8%
Vinorelbina (VIN)	0,4		0,1%
Citarabina (CYA)	0		0%

Tabella 7.16 - Quantitativi (in grammi) dei farmaci antineoplastici preparati dall'Unità Farmaci antiblastici nel giorno **13 marzo 2009**

<i>Farmaco</i>	<i>Quantità Preparata (g)</i>	<i>Quantità totale di FCA preparati (g)</i>	<i>Quantità Preparata Quantità totale (%)</i>
Fluorouracile (5-FU)	12	54g	23%
Gemcitabina (GCA)	12		23%
Cispaltino (CYS)	0,5		1%
Metotrexato (MTX)	0,3		0,5%
Epirubicina (EPI)	0.3		0,5%
Dacarbazina (DAC)	0,5		1%
Ifosfamide (IFO)	5		9%
Vinorelbina (VIN)	0,2		0,4%
Citarabina (CYA)	0		0%

7.5.4. Risultati del monitoraggio ambientale struttura B

7.5.4.1 Valori di contaminazione delle superfici nell' Unità Farmaci Antiblastici

La tabella 7.17 riassume i risultati del monitoraggio effettuato nei locali dell'unità farmaci antiblastici relativi alla misura dei 7 farmaci differenti in ogni campione raccolto su ciascuna delle superfici scelte, per un totale di 16 campioni e di 112 determinazioni analitiche.

La contaminazione è risultata misurabile con valori superiori al LoC in 23 sul totale di 112 determinazioni analitiche eseguite, con una frequenza di valori misurati per ogni singolo farmaco espressa sul totale dei campioni pari a: 5-FU: 5/16; CYA: 4/16; GCA: 8/16; MTX: 2/16; DAC: 3/16; EPI: 1/16, VIN 0/16 campioni. Sul totale di 16 campioni, corrispondenti a 16 differenti posizioni di campionamento, il numero di quelle risultate positive per almeno un farmaco risulta pari a 10/16 (60%).

Il valore medio dell'entità della contaminazione delle superfici, risulta per ogni singolo farmaco misurato inferiore a $1\mu\text{g}/\text{m}^2$ (vedi tab.7.19).

Tabella 7.17 - Valori di contaminazione misurati nell'Unità farmaci antitumorali Campionamento del 13 Marzo 2009

id Camp	Posizione	Vol. (mL)	Area (m ²)	5-FU (µg/m ²)	CYA (µg/m ²)	GCA (µg/m ²)	MTX (µg/m ²)	EPI (µg/m ²)	DAC (µg/m ²)	VIN (µg/m ²)
C01	Cappa davanti finestra	50	0,88	1	0 ^b	2	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
C02	Cappa davanti frigorifero	50	0,79	5	0 ^b	2	2	0 ^b	1	0 ^b
C03	Cappa davanti bancone	50	0,79	3	0 ^b	1	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
C04	Pavimento davanti cappa	50	1,26	0 ^b	0 ^b	2	1 ^c	2	0 ^b	0 ^b
C05	Pavimento davanti cappa	50	1,43	0 ^b	1	1	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
C06	Pavimento davanti bancone	50	1,00	0 ^b	1	1	0 ^b	0 ^b	1	0 ^b
C07	Scatole porta preparazioni	50	0,08	5	2	34	0 ^b	0 ^b	16	0 ^b
C08	Bancone	50	1,44	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
C09	Pavim. dav. porta antip.	20	0,55	0 ^b	1	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
C10	Maniglia porta antipanico	20	0,47	0 ^b	0 ^b	1	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
C11	Pavimento davanti frigo	50	1,00	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
C12	Maniglie ext frigoriferi	20	0,10	9	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
C13	Anta frigorifero	20	1,04	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
C14	Anta frigorifero	20	1,04	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
C15	Telefono	20	0,03	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
C16	Scrivania	20	0,25	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
Numero campioni risultati superiori al LoC				5/16	4/16	8/16	2/16	1/16	3/16	0/16
Numero campioni risultati positivi ad almeno un farmaco				10/16						
Abbreviazioni: 5FU = 5-Fluoruracile, GCA = Gemcitabina, CYA = Citarabina, MTX =Metotrexato, EPI =Epirubicina, DAC =Dacarbazina, VIN =Vinorelbina NOTE: ^b 0 = inferiore al LoC ; LoC= limite minimo di rilevabilità della contaminazione, calcolato dal limite di rilevabilità analitica di ogni singolo analita e della estensione della superficie campionata; LoC = 1µg/m ²										

7.5.4.2 Valori di contaminazione delle superfici nei locali somministrazione.

La superficie del pavimento della stanza n.7 del reparto degenza al 2 secondo piano (campioni C17) mostra valori di contaminazione rilevabili e comunque non superiori a $5\mu\text{g}/\text{m}^2$ solo per i farmaci 5-FU, GCA e DAC.

Il campione C18 risulta essere contaminato solo dal farmaco CYA con un valore di contaminazione inferiore a $5\mu\text{g}/\text{m}^2$.

La superficie del pavimento antistante la poltrona di somministrazione collocata nella stanza n.26 del day hospital (campione C23) risulta essere contaminata solo dal farmaco GCA con un valore di contaminazione pari a $1\mu\text{g}/\text{m}^2$.

La pompa d'infusione (campione C19) collocata nella stanza n.2 del day hospital risulta essere contaminata dal farmaco GCA con un valore di contaminazione pari a $8\mu\text{g}/\text{m}^2$.

La tabella 7.18 riassume i risultati del monitoraggio effettuato presso i locali adibiti alla somministrazione relativi alla misura di 7 farmaci differenti in ogni campione raccolto su ciascuna delle superfici scelte, per un totale di 7 campioni e di 49 determinazioni analitiche. Nel complesso la contaminazione è risultata misurabile con valori superiori al LoC, in 6 determinazioni sul totale di 49 determinazioni analitiche, con una frequenza di valori misurati per ogni singolo farmaco espressa sul totale dei campioni pari a: 5-FU: 1/7; CYA: 1/7; GCA: 3/7; MTX: 0/7; DAC: 1/7; EPI: 0/7 campioni. Sul totale di 7 campioni corrispondenti a 7 posizioni di campionamento, il numero di quelle risultate positive per almeno un farmaco risulta pari a 4/7 (50%).

Tabella 7.18 - Valori di contaminazione misurati nei locali di somministrazione Campionamento del 13 Marzo 2009

Camp	Posizione	Vol. (mL)	Area (m ²)	5-FU (µg/m ²)	CYA (µg/m ²)	GCA (µg/m ²)	MTX (µg/m ²)	EPI (µg/m ²)	DAC (µg/m ²)	VIN (µg/m ²)
C17	Stanza n. 7- II piano, pav. a sx del letto vicino alla finestra	20	1	5	0 ^b	1	0 ^b	0 ^b	1	0 ^b
C18	Stanza n. 7- II piano, pavimento servizi igienici	20	1	0 ^b	1	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
C19	Stanza n. 2 D. H., pompa infusione + asta	20	1	0 ^b	0 ^b	8	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
C20	Stanza n. 1 D. H., Pavimento tra 2 poltrone lato finestra	20	1	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
C21	Stanza n. 1 D. H., Pavimento tra 2 poltrone lato porta	20	1	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
C22	Stanza n. 26 D. H., Pavimento tra 2 poltrone lato finestra	20	1	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
C23	Stanza n. 26 D. H.Pavimento tra 2 poltrone lato porta	20	1	0 ^b	0 ^b	1	0 ^b	0 ^b	0 ^b	0 ^b
Numero campioni risultati superiori al LoC				1/7	1/7	3/7	0/7	0/7	1/7	0/7
Numero campioni risultati positivi ad almeno un farmaco				4/7						
Abbreviazioni: 5FU = 5-Fluoruracile, GCA = Gemcitabina, CYA = Citarabina, MTX =Metotrexato, EPI =Epirubicina, DAC =dacarbazina, VIN =vinorelbina NOTE: ^b 0 = inferiore al LoC; LoC= limite minimo di rilevabilità della contaminazione, calcolato dal limite di rilevabilità analitica di ogni singolo analita e della estensione della superficie campionata; LoC = 1µg/m ²										

Tabella 7.19 - Valore medio dell'entità della contaminazione delle superfici, campionate il 13 marzo 2009, del 'locale preparazioni' calcolato per singolo farmaco tracciante

Riferimenti	5-FU (µg/m ²)	CYA (µg/m ²)	GCA (µg/m ²)	MTX (µg/m ²)	EPI (µg/m ²)	DAC (µg/m ²)	VIN (µg/m ²)
Massa totale del farmaco misurata nei campioni (µg)	0,88	3,16	5,89	0,86	2,46	0,92	0
Somma superfici campionate locale preparazione (m ²)	6,10	6,10	6,10	6,10	6,10	6,10	6,10
Valore medio di contaminazione (µg/m ²)	0,14	0,51	0,96	0,14	0,40	0,15	0
NOTE: <i>d =valore calcolato come rapporto tra la massa totale del farmaco tracciante misurato e la somma delle estensioni di tutte le superfici campionate del locale preparazione (esclusa la superficie di lavoro della cappa).</i>							

8. INDICI DI CONTAMINAZIONE ASSOLUTI E SINOTTICI A CONFRONTO

Tabella 8.1 - Confronto dei valori degli indicatori di contaminazione e degli indici sinottici delle categorie di accuratezza ed efficacia calcolati per i locali di preparazione nelle 10 strutture ospedaliere selezionate.

Codice Ospedale	Contaminazione delle superfici ($\mu\text{g}/\text{m}^2$)		Quantità Farmaci preparati (grammi)		Indici di contaminazione-disseminazione	
	Media Locale preparazione ^(a)	Cappa di preparazione ^(b)	Settimana Lunedì-Venerdì ^(c)	Venerdì ^(d)	e1 ^(e)	e2 ^(f)
A	0,98	2,16	57,14	7,66	1,1	0,011
B	12,27	15,48	62,90	10,14	3,4	0,315
C	8,51	62,01	145,87	11,91	10,5	0,044
D	1,91	12,42	26,30	4,23	3,9	0,087
E	4,34	15,89	76,66	10,10	2,6	0,065
F	19,19	1875,40	22,13	2,60	2048,4	0,641
G	3,24	28,39	8,10	0,50	222,9	0,484
H	33,70	89,08	19,31	4,10	37,1	1,763
I	5.30	48.60	188	30	15.9	0.272
L	2.30	5.25	389	54	0.5	0.048

^a: **indicatore assoluto di contaminazione**: valore calcolato come rapporto tra la massa totale dei farmaci traccianti misurati e la somma delle estensioni di tutte le superfici campionate del locale preparazione (esclusa la superficie di lavoro della cappa), ma non degli eventuali locali filtro ad esso attigui.

^b: **indicatore assoluto di contaminazione**: valore calcolato come rapporto tra la massa totale di tutti i farmaci traccianti misurati e l'estensione della superficie interna della cappa di preparazione, comprendente il ripiano di lavoro e la superficie delle tre pareti interne, per un'altezza di 30cm a partire dal ripiano.

^c: valore calcolato sulla base dei dati forniti dalla singola realtà indagata, come somma delle quantità, espresse in grammi, dei traccianti, preparati nella farmacia nelle giornate da Lunedì a Venerdì incluso.

^d: valore calcolato sulla base dei dati forniti dalla singola realtà indagata, come somma delle quantità, espresse in grammi, dei traccianti preparati nella farmacia nella sola giornata di Venerdì, nella quale è stato eseguito il campionamento.

^e: **indice sinottico di contaminazione (efficienza del contenimento) e1**: calcolato come rapporto tra la quantità totale di farmaci misurati sulle superfici interne della cappa di preparazione (espressa come nanomoli totali dei farmaci considerati come traccianti) e la loro corrispondente quantità preparata nella giornata di Venerdì (espressa come millimoli totali dei traccianti).

^f: **indice sinottico di disseminazione (efficacia del contenimento) e2**: calcolato come rapporto tra la quantità totale di farmaci misurati sulle superfici del locale di preparazione (espressa come nanomoli totali dei farmaci considerati come traccianti) e la loro corrispondente quantità preparata nelle giornate da Lunedì a Venerdì incluso, (espressa come millimoli totali dei traccianti).

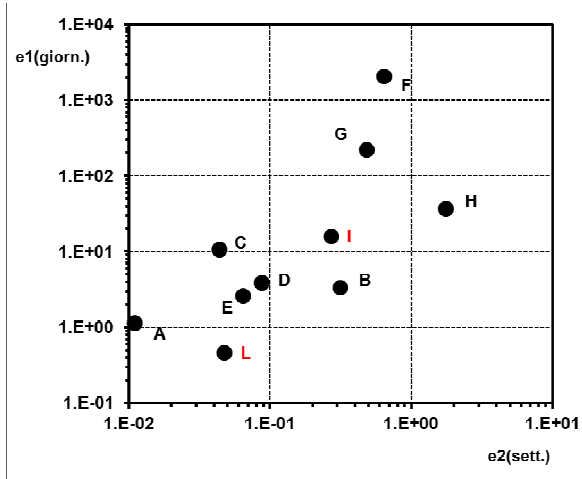


Figura 8.1 Confronto degli indici di contaminazione (e1) della cappa ed (e2) del locale, calcolati sulla base del consumo giornaliero/settimanale di farmaci.

Note: i valori sono riportati in scala logaritmica su base decimale: 1E-02 corrisponde a 0,01; 1E-01= 0,1; 1E+00 =; 1E+01 = 10; 1E+02 = 100; ecc.

La tabella e il grafico 8.1 fanno riferimento a campagne di monitoraggio effettuate in tempi diversi (2007,2009,2010) in strutture diverse, usando traccianti per la valutazione della contaminazione differenti. La confrontabilità dei valori misurati risiede nella possibilità di “pesare” le contaminazioni misurate sul carico di lavoro di ciascun ospedale. La comparazione tra indici assoluti e sinottici di contaminazione consente di individuare situazioni lavorative apparentemente efficienti per bassi valori di contaminazione assoluta, ma migliorabili considerate le quantità di farmaci manipolate. Viceversa strutture con valori puntuali di contaminazione più elevata, risultano nel complesso più sicure in rapporto ai ben maggiori quantitativi di farmaci impiegati. Le lettere evidenziate in rosso si riferiscono alle ultime due strutture indagate. In base ai criteri di interpretazione enunciati si può affermare che la struttura “L” (che è la struttura rinominata con la lettera B nel capitolo 7) ha raggiunto l’intervallo ALARA tecnicamente ottenibile, ovverosia una situazione di pieno controllo della contaminazione all’interno della cappa di preparazione con grande capacità di contenimento della stessa anche nel locale di preparazione (si noti altresì che, delle strutture prese in esame, è quella con valore assoluto di quantità di farmaci movimenti più alta). La struttura “I” che si presenta come unità farmaci antitumorali di ultima generazione, (progettata e realizzata con largo uso di acciaio inox per facilitare il mantenimento dell’igienicità, con cappe di ultima generazione a flusso laminare di classe II senza ricircolo dell’aria, in ambiente a depressione rispetto alle zone limitrofe) presenta una situazione che almeno per quanto attiene alla capacità di contenere la contaminazione (indicata dal valore e2) presenta importanti margini di miglioramento. Il caso più funzionale per valutare la validità dell’impiego di indici sinottici di contaminazione è il confronto tra le strutture C e G. Monitorate entrambe nello stesso periodo utilizzando gli stessi traccianti, hanno fatto registrare livelli di contaminazione assoluta tali da suggerire che G sia in linea di principio una realtà più efficiente di C sotto tutti i profili. Il calcolo dei valori e1 ed e2 capovolge il criterio di giudizio tenendo conto della grande differenza di farmaci movimentati tra le due strutture (con un carico di lavoro della struttura C circa 20 volte superiore rispetto alla struttura G).

9 CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

La professionalità del laboratorio LaTMA, con la sistematica applicazione di protocolli e procedure standardizzati e collaudati nel tempo, ha consentito di delineare lo scenario relativo alla igienicità ed efficienza delle strutture ospedaliere specializzate nella manipolazione e somministrazione di farmaci antitumorali. La fondatezza e la veridicità dei giudizi dispensati nelle relazioni redatte a conclusione delle indagini fin qui effettuate, poggiano su una esperienza ormai quindicinale in attività di monitoraggio e verifica della salubrità di ambienti di lavoro. L'elevata quantità di dati raccolti ha consentito di creare modelli interpretativi dei risultati delle misure effettuate sul campo, onde tentare di dare contorni ben definiti alla descrizione del fenomeno della contaminazione e dispersione in ambiente di CA. In mancanza di valori di riferimento di CA che possano discriminare un ambiente di lavoro ragionevolmente non contaminato da uno potenzialmente pericoloso per il lavoratore, il principio ALARA, normalmente applicato, sembra, per sua intrinseca natura, prestarsi ad interpretazioni diverse. Gli strumenti utilizzati per superare questo limite (protocolli e procedure di lavoro standardizzati, strategie di monitoraggio consolidate nel tempo, metodi di analisi semplici, validati, riproducibili ed economici) hanno consentito di creare griglie interpretative (con intervalli di concentrazione di CA ben definiti) che vanno oltre la descrizione "puntuale" della contaminazione, e consentono di esprimere giudizi sintetici a descrizione dell'efficienza tecnica e procedurale delle realtà oggetto di indagine. La reiterata attività di monitoraggio in alcune strutture lombarde d'eccellenza ha consentito inoltre l'acquisizione di dati di riferimento (benchmark ALARA), sia in termini di quantità e tipologia di farmaci impiegati, sia in termini di livello di contaminazione degli ambienti di lavoro. Le relazioni empiricamente stabilite (ma verificate matematicamente con buona approssimazione) tra quantità di farmaco manipolate e contaminazione misurata, danno una connotazione predittiva al modello proposto per l'interpretazione dei dati sperimentali. L'introduzione di nuovi indicatori della contaminazione (vedi eq. 6.3, 6.4) normalizzati rispetto alle quantità di farmaci impiegate, ha come obbiettivo il superamento della difficoltà di confrontare, in termini di contaminazione ed efficienza strutturale, realtà ospedaliere differenti. Come è noto, le variabili che influenzano la contaminazione e la dispersione di CA, sono molteplici, e non tutte eliminabili a priori. A tal proposito, fondamentali sono i questionari informativi relativi all'attività degli operatori coinvolti, il numero di operazioni effettuate sotto cappa, il corretto utilizzo di dispositivi di protezione individuale, i dispositivi di sicurezza impiegati nella preparazione delle infusioni chemioterapiche, la manualità dell'operatore sotto la cappa di preparazione. La normalizzazione della contaminazione rilevata è un tentativo di escludere la variabile "carico di lavoro" o quantomeno di attenuarne l'effetto, per poter consentire un confronto realistico tra strutture diverse.

Come riportato nel paragrafo 6.2.4, un'attenta lettura dei risultati di monitoraggio ambientale (e biologico) nell'arco degli ultimi 10-15 anni, ha fatto registrare una sensibile diminuzione dei livelli di contaminazione dei locali normalmente oggetto di indagini. I miglioramenti sono di portata così elevata (il fattore di riduzione oscilla da 100 a 1000) che sembra evidente il ruolo chiave esercitato dalla adozione di nuove e più stringenti regole nella preparazione e somministrazione di Farmaci Antitumorali. In questo senso si può dire che la normative

nazionali e regionali hanno sicuramente creato le condizioni per la crescente presa di coscienza da parte del personale professionalmente esposto, contribuendo in maniera cruciale al miglioramento osservato.

La valutazione dell'entità della contaminazione da CA è oggi ancora più realistica e completa grazie anche e soprattutto, agli importanti passi avanti verificatisi nello sviluppo di nuovi metodi analitici. La disponibilità sempre maggiore di strumentazioni analitiche sofisticate e performanti (HPLC-MS/MS, GC-MS, ICP/MS), consente di raggiungere limiti di rilevabilità sempre più bassi associati a robustezza e riproducibilità del metodo, con conseguente affidabilità del dato finale a livelli impensabili solo 10 anni fa. Lo sviluppo di metodi analitici basati su determinazioni multielemento, consente un'indagine più approfondita e completa (se e quando richiesta) sulla possibile contaminazione degli ambienti di lavoro per la reale possibilità di determinare più farmaci con un'unica analisi. I vantaggi di tale approccio analitico si riflettono non solo sul monitoraggio ambientale, ma anche sul monitoraggio biologico, che è lo strumento elettivo per misurare l'esposizione diretta a CA nel personale professionalmente esposto. Partendo dal riferimento normativo regionale (Allegato al Decreto Regione Lombardia 11/12/2001 n.3113) secondo il quale *“La determinazione di farmaci antitumorali o di loro metaboliti nei liquidi biologici (sangue, urina) è la tecnica elettiva per la valutazione dell'esposizione professionale a CA...”*, si può affermare che i problemi relativi alla difficoltà di messa a punto di metodi che forniscano una risposta riproducibile in una matrice complessa come l'urina, sono oggi stati ampiamente superati. Come conferma la letteratura scientifica, si possono infatti quantificare livelli di farmaco in liquidi biologici (per lo più urina) dell'ordine di frazioni di nanogrammi per litro, garantendo l'affidabilità del dato (parametri di validazione noti e certificati secondo gli stringenti criteri redatti da FDA) (Connor et al 2010). Il fatto che indagini di monitoraggio biologico abbiano fatto registrare percentuali di positività dell'ordine di 0/100 soggetti per esposizione a ciclofosfamide con un LOD (limite di rivelabilità) < 0,2 µg/L (Sottani et al 2012) e 0/88 soggetti con LOD < 10 ng/L (Hedmer et al., 2008), fa pensare che un'adeguata sinergia tra addestramento del personale addetto e aderenza scrupolosa alle linee guida tracciate, siano in grado di ridurre significativamente l'esposizione a CA. A questo proposito, in riferimento a quanto detto nel paragrafo 2.3 in merito allo studio sulla valutazione di rischio di tumore nel personale professionalmente esposto (Sorsa, Anderson 1996) si ricorda che la stima della dose assorbita dal personale coinvolto, non superava i 0,2 mg/anno, corrispondente a una dose giornaliera pari a 1 µg/die (200 giorni lavorativi). La proiezione sul totale dell'esperienza lavorativa equivaleva a circa 8 mg di Ciclofosfamide che è pari allo 0,2% della dose terapeutica somministrata ai pazienti. La stima del rischio di leucemia estrapolata era di 20 casi per milione. Le evidenze sperimentali sono a netto favore di una condizione lavorativa odierna che garantisce un alto livello di sicurezza per l'operatore, mettendolo al riparo da una qualunque possibilità di rischio tumore derivante dalla manipolazione di CA.

BIBLIOGRAFIA

Allwood M.C., Wright, P. (1993), *The cytotoxics handbook*. Oxford: Radcliffe Medical Press.

American Society of Hospital Pharmacists (1985) ASHP technical assistance bulletin on handling cytotoxic drugs in hospitals. *Am. J. Hosp. Pharm.* 42, 131-137.

Anderson R.W., Puckett W.H., Dana W.J., Nguyen, T.V., Theiss J.C., Matney T.S. (1982) Risk of handling injectable antineoplastic agents. *Am. J. Hosp. Pharm.* 39, 1881-1887.

Baker G.L., Kahl L.E., Zee B.C., Stolzer B.L., Agarwal A.K., Medsger T.A.J. (1987) Malignancy following treatment of rheumatoid arthritis with cyclophosphamide. Long-term case-control follow-up study. *Am. J. Med.* 83, 1-9.

Barber R.K. (1981) Fetal and neonatal effects of cytotoxic agents. *Obstet. Gynecol.* 51, 415-475.

Barbieri A., Sabatini L., Indiveri P., Bonfiglioli R., Lodi V., Violante F.S. (2000) Simultaneous determination of low levels of methotrexate and cyclophosphamide in human urine by micro liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20: 1889-1893

Basilico S., Margonari M., Nava C., Petri A., Rubino F.M., Floridia L., Occhipinti E., Colombi A. (2000): "Tutela della salute degli operatori e monitoraggio ambientale dei farmaci antineoplastici in ambito ospedaliero." in: *Progressi nella valutazione del rischio espositivo da chemioterapici antitumorali*. Atti del Convegno Nazionale "Progressi nella valutazione del rischio espositivo a chemioterapici antitumorali" Pavia, 14-15 Ottobre 1999 vol.5, 177-86.

Beeley L. (1981) Adverse effects of drugs in the first trimester of pregnancy. *Clin. Obstet. Gynec.* 8, 261-274.

Bokemeyer C., Schmoll, H.J., Kuczyk, M.A., Beyer, J., Siegert, W. (1995) Risk of secondary leukemia following high cumulative doses of etoposide chemotherapy for testicular cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 1 58-60.

Boros S.J., Reynolds J.W. (1977) Intrauterine growth retardation following third trimester exposure to busulfan. *Am J. Obstet. Gynecol.* 129, 111-112.

Bos R.P., Leenaars A.O., Theuvs J.L.G., Henderson, P.T. (1982) Mutagenicity of urine from nurses handling cytostatic drugs, influence of smoking. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 50, 359-369.

Bos R.P., Weissenberger B.F.J., Anzion R.B.M. (1998) α -Fluoro- β -alanine in urine of workers occupationally exposed to 5-fluoruracil in a 5-fluoruracil-producing factory. *Biomarkers* 3(1), 81-87.

Caro, J.P. (1981) *Oncology practice. Proceedings of the American Society of Hospital Pharmacists'Institute.* Toronto: The American Society of Hospital Pharmacists.

Castiglia L., Miraglia N., Pieri M., Simonelli A., Basilicata P., Genovese G., Guadagni R., Acampora A., Sannolo N., Scafarto MV. 2008 Evaluation of Occupational Exposure to Antiblastics Drugs in an Italian Hospital Oncological Department. *J. Occup Health* 50 48-56.

Caudell K.A., Vredevoe D.L., Dietrich M., Caudell T., Hoban M., Block J. (1988) Quantification of urinary mutagens in nurses during potential antineoplastic agent exposure: a pilot study with concurrent environmental and dietary control. *Cancer Nurs.* 11, 41-50.

Cavallo D, Ursini CL, Perniconi B, Francesco AD, Giglio M, Rubino FM, Marinaccio A, Iavicoli S. 2005 Evaluation of genotoxic effects induced by exposure to antineoplastic drugs in lymphocytes and exfoliated buccal cells of oncology nurses and pharmacy employees. *Mutat Res.*587(1-2):45-51.

Christensen C.J., Lemasters G.K., Wakeman M.A. (1990) Work practices and policies of hospital pharmacists preparing antineoplastic agents. *J. Occup. Med.* 32, 508-512.

Clinical Oncological Society of Australia (1983) Guidelines and recommendations for safe handling of antineoplastic agents. *Med. J. Aust.* 1, 426-428.

Clowse ME, Magder L, Petri M.(2005) Cyclophosphamide for lupus during pregnancy. 14: 593-7.

Colligan, S.A., Horstman, S.W. (1990), Permeation of cancer chemotherapeutic drugs through glove materials under static and flexed conditions. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 5, 848-852.

Connor T.H., Anderson, R.W., Sessink, P.J., Broadfield, L., Power, L.A. (1999) Surface contamination with antineoplastic agents in six cancer treatment centers in Canada and the United States. *Am J. Health Syst. Pharm.* 56, 1427-1432.

Connor TH., Gayle DeBord D., Pretty JR., Oliver MS., Roth TS., Lees P.S.J., Krieg E. F.JR., Rogers B., Escalante CP., Toennis CA., Clark JC., Johnson BC., McDiarmid M., Evaluation of Antineoplastic Drug Exposure of Health Care Workers at Three University-Based US Cancer Centers. *JOEM* 52 (10) 1019-1027

Council on Scientific Affairs (1985) Guidelines for handling parenteral antineoplastics. *JAMA* 253, 1590-1592.

Crudi, C.B. (1980) A compounding dilemma: I've kept the drug sterile but I have contaminated myself. *N.I.T.A.* 3 77-78.

Decreto Legislativo n. 242 del 19.03.1996. Modifiche ed integrazioni al decreto legislativo 19 settembre 1994, n. 626, recante attuazione di direttive comunitarie riguardanti il miglioramento della sicurezza e della salute dei lavoratori sul luogo di lavoro (S.O. alla G.U. n. 104 del 6.5.1996).

Decreto Legislativo n. 475 del 4.12.1992. Attuazione della direttiva 89/686/CEE del Consiglio del 21 dicembre 1989, in materia di ravvicinamento delle legislazioni degli stati membri relative ai dispositivi di protezione individuale (S.O. alla G.U. n. 289 del 9.12.1992).

Decreto Legislativo n. 626 del 19.09.1994. Attuazione delle direttive 89/391/CEE, 89/654/CEE, 89/655/CEE, 89/656/CEE, 90/269/CEE, 90/270/CEE, 90/394/CEE, 90/679/CEE riguardanti il miglioramento della sicurezza e della salute dei lavoratori sul luogo di lavoro (S.O. alla G.U. n. 265 del 12.11.1994).

DeWerk Neal, A., Wadden, R.A., Chiou, W.L. (1983) Exposure of hospital workers to airborne antineoplastic agents. *Am. J. Hosp. Pharm.* 40, 597-601.

Dumont, D. (1989) Risques encourus par les personnels soignants manipulant des cytostatiques. *Arch. Mal. Prof.* 50 109-125.

Enns GM, Roeder E, Chan RT, Ali-Khan Catts Z, Cox VA, Golabi M. (1999) Apparent cyclophosphamide (cytoxan) embryopathy: a distinct phenotype? *Am J Med Genet.* 86 237-41.

Ensslin, A.S., Pethran, A., Schierl, R., Fruhmann, G. (1994) Urinary platinum in hospital personnel occupationally exposed to platinum-containing antineoplastic drugs. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 65, 339-342.

Ensslin, A.S., Stoll, Y., Pethran, A., Pfaller, A., Rommelt, H., Fruhmann, G. (1994) Biological monitoring of cyclophosphamide and ifosfamide in urine of hospital personnel occupationally exposed to cytostatic drugs. *Occup. Environ. Med.* 51, 229-233.

Evelo CT, Bos RP, Peters JG, Henderson PT. (1986) Urinary cyclophosphamide assay as a method for biological monitoring of occupational exposure to cyclophosphamide. *Int Arch Occup Environ Health.* 58: 151-5.

Fabrizi G., Fioretti M., Mainero Rocca L., Curini R. (2011) DESI-MS2: a rapid and innovative method for trace analysis of six cytostatic drugs in health care setting. *Anal Bioanal Chem.*

Falck K., Grohn P., Sorsa M., Vainio H., Heinonen E., Holsti L.R. (1979) Mutagenicity in urine of nurses handling cytostatic drugs. *Lancet* i, 1250-1251.

Florida L., Pietropaolo A.M., Tavazzani M., Rubino F.M., Colombi A. (1999) Measurement of surface contamination from nucleoside drugs by high-performance liquid chromatography in occupational hygiene studies of oncologic hospital departments. *J. Chromatogr. B* 724 325-334.

Florida L., Pietropaolo A.M., Tavazzani M., Rubino F.M., Colombi A. (1999) High-performamance liquid chromatography of methotrexate for environmental monitoring of surface contamination in hospital departments and assessment of occupational exposure. *J. Chromatogr. B* 726 95-103.

Florida L., Rubino F.M., Pietropaolo A.M., Tavazzani M., Colombi A. (2000)"Ottimizzazione del protocollo di campionamento e dei metodi analitici per la determinazione di farmaci antineoplastici in matrici ambientali prelevate con la tecnica del wipe-test." in: *Progressi nella valutazione del rischio espositivo da chemioterapici antitumorali*. Atti del Convegno Nazionale "Progressi nella valutazione del rischio espositivo a chemioterapici antitumorali" Pavia, 14-15 Ottobre 1999 vol.5, 31-38.

Fransman W., Peelen S., Hilhorst S., Roeleveld N., Heederik D., Kromhout H. (2007) A Pooled Analysis to Study Trends in Exposure to Antineoplastic Drugs Among Nurses *Ann. Occup. Hyg.* Vol. 51 No. 3 pp. 231–239.

Fraumeni J.F.J., Miller R.W. (1972) Drug-induced cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 48(5) 1267-1270.

Gabriele P., Airolidi M., Succo G., Brando V., Ruotolo M.G. (1993) Undifferentiated Nasopharyngeal-type Carcinoma in a nurse Handling Cytostatic Agents *Eur J Cancer Oral Oncol* 29B 153

Gilliland, J., Weinstein, L. (1983) The effects of cancer chemotherapeutic agents on the developing fetus. *Obstet. Gynecol. Surv.* 38 6-13.

Greenberg LH, Tanaka KR.(1964) Congenital anomalies probably induced by cyclophosphamide. *J Am Med Assoc.* 188 423-6.

Greene M.H., Harris E.L., Gershenson D.M., Malhasian G.D., Joseph Melton L., Dempo A.J., Bennet J.M., Moloney W.C., Boice, J.D. (1986) Melphalan may be a more potent leukemogen than cyclophosphamide. *Ann. Intern. Med.* 105 360-367.

Gregoire R.E., Segal R., Hale K.M. (1987) Handling antineoplastic drug admixtures at cancer centers: practices and pharmacist attitudes. *Am. J. Hosp. Pharm.* 44 1090-1095.

Gregoire R.E., Segal R., Hale K.M. (1987) Handling antineoplastic drug admixtures at cancer centers: practices and pharmacist attitudes. *Am. J. Hosp. Pharm.* 44 1090-1095.

Haas J.F., Kittelman B., Mehnert W.H., Staneczak W., Möhner M., Kaldor J.M., Day N.E. (1987) Risk of leukaemia in ovarian tumour and breast cancer patients following treatment by cyclophosphamide. *Br. J. Cancer* 55 213-218.

Hansen T.B., Wadden R.A. (1988) Sample loss during measurement of airborne antineoplastic agents. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 49(2) 58-60.

Harrison, B.R. (1981), Developing guidelines for working with antineoplastic drugs. *Am. J. Hosp. Pharm.* 38 1686-1693.

Harrison B.R., Peters BG., Bing MR. (2006) Comparison of surface contamination with cyclophosphamide and fluorouracil using a closed-system drug transfer device versus standard preparation techniques. *Am J Health Syst Pharm.* Sep 15 63(18) 1736-44.

Hedmer M., Jonsson A. G., Nygrenb O. (2004) Development and validation of methods for environmental monitoring of cyclophosphamide in workplaces. *J. Environ. Monit* 6 979 – 984.

Hedmer M., Tinnerberg H., Axmon A., Jönsson B. A. G.(2008) Environmental and biological monitoring of antineoplastic drugs in four workplaces in a Swedish hospital. *Int Arch Occup Environ Health* 81 899–911

Hemminki K., Kyyronen P., Lindbohl M.L. (1985) Spontaneous abortions and malformations in the offspring of nurses exposed to anesthetic gases, cytostatic drugs and other potential hazards in hospitals, based on registered information of outcome. *J. Epidemiol. Comm. Health* 39 141-147.

Hemminki K., Ludlum D. (1984) Covalent modification of DNA by antineoplastic agents. *J. Natl. Cancer Inst.* 73 1021-1028.

Henry-Amar M. (1983) Second cancer after radiotherapy and chemotherapy for early stages of Hodgkin's disease. *J.Natl. Cancer Inst.* 71 911-916.

Hirst M, Tse S, Mills DG, Levin L, White DF. (1984) Occupational exposure to cyclophosphamide. *Lancet.* 1: 186-8.

International Agency for Research on Cancer (1975). Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man: Some Aziridines, N-, S-, and O-mustards and selenium. Lyon, France 9.

International Agency for Research on Cancer (1976). Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man: Some naturally occurring substances. Lyon, France 10.

International Agency for Research on Cancer (1981). Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Some Antineoplastic and Immunosuppressive Agents. Lyon, France 26.

International Agency for Research on Cancer (1982). Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Chemicals, Industrial Processes and Industries Associated with Cancer in Humans. Lyon, France 1-29 (Suppl. 4).

International Agency for Research on Cancer (1987), IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemical to Man. Geneva, World Health Organization,. S7, 61.

International Agency for Research on Cancer (1987). Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans; Overall evaluations of carcinogenicity: An updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42. Lyon, France 1-42 (Suppl. 7).

International Agency for Research on Cancer (1987). Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Genetic and related effects: An updating of selected IARC Monographs from Volumes 1-42. Lyon, France 1-42 (Suppl. 6).

International Agency for Research on Cancer (1990). Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Pharmaceutical Drugs. Lyon, France 50.

Kaldor, J.M., Day, N.E., Shiboski, S. (1986) Epidemiological studies of anticancer drugs carcinogenicity. In D. Shal, J.M. Kaldor (eds) Carcinogenicity of alkylating cytostatic drugs. Lyon. IARC Scientific publications 78 189-203.

Kaldor J.M., Day N.E., Petterson F., Clarke E.A., Pedersen D., Mehnert W., Bell J., Høst H., Prior P., Karjalainen S., Neal F., Koch M., Band P., Choi W., Pompe-Kirn V., Arslan A., Zaré B., Belch A.R., Storm H., Kittelmann B., Fraser P., Stovall M. (1990), Leukemia following chemotherapy for ovarian cancer. N. Engl. J. Med. 322 1-6.

Kirshon B, Wasserstrum N, Willis R, Herman GE, McCabe ER.(1988) Teratogenic effects of first trimester cyclophosphamide therapy. Obstet Gynecol. 72:462-4.

Kleinberg M.L., Quinn, M.J. (1981), Airborne drug levels in a laminar-flow hood. Am. J. Hosp. Pharm. 38, 1301-1303.

Knowles, R., Virden, J. (1980) Handling of injectable antineoplastic agents. Br. Med. J. 281 589-591.

Kolmodin-Hedman, B., Hartvig, P., Sorsa, M., Falck, K. (1983) Occupational handling of cytostatic drugs. Arch. Toxic. 54 25-33.

Ladik C.F., Stoehr G.P., Maur M.A. (1980) Precautionary methods in the preparation of anti-neoplastics. *Amer. J. Hosp. Pharm.* 37 1184-1186.

Laidlaw, J.L., Connor, T.H., Theiss, J.C., Anderson, R.A., Matney, T.S. (1984), Permeability of latex and polyvinyl chloride gloves to 20 antineoplastic drugs. *Am. J. Hosp. Pharm.* 41, 2618-2623.

LaFond (1978), Cancer: the outlaw cell. *Chemistry* 50, 165-178

Levin L.I., Holly E.A., Seward J.P. (1993) Bladder cancer in a 39-year-old female pharmacist. *J. Natl. Cancer Inst.* 85(13) 1089-1091.

Linee guida per la sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antitumorali in ambiente sanitario (1997) Documento approvato dalla Commissione Oncologica Nazionale, 21.01.1997. In: atti del Convegno Nazionale "La prevenzione dei rischi lavorativi derivanti dall'uso di chemioterapici antitumorali in ambiente sanitario e gli adempimenti previsti dal D.Lgs. 626/94. 13 novembre 1995.

Mader R.M., Rizovski B., Steger G.G., Rainer H., Proppertner R., Kotz R. (1993) Determination of methotrexate in human urine at nanomolar levels by high-performance liquid chromatography with column switching. *J. Chromatogr. B* 613 311-316.

Mayer D.K. (1992) Hazards of chemotherapy. Implementing safe handling practices. *Cancer (Suppl.)* 70(4) 988-992.

McDevitt J.J., Lees P.S.J., McDiarmid M.A. (1993) Exposure of hospital pharmacists and nurses to antineoplastic agents. *JOM* 35(1) 57-60.

McDiarmid M.A., Egan T., Furio M., Bonacci M., Watts S.R. (1986) Sampling for airborne fluorouracil in a hospital drug preparation area. *Am. J. Hosp. Pharm.* 43 1942-1945.

McDiarmid M., Egan T. (1988) Acute occupational exposure to antineoplastic agents. *J Occup Med.* 30(12) 984-7.

McDonald A.D., McDonald J.C., Armstrong B., Cherry N.M., Cote R., Lavoie J., Nolin A.D., Robert D. (1988) Congenital defects and work in pregnancy. *Br. J. Ind. Med.* 45(9) 581-588.

Meijster T., Fransman W., van Hemmen J., Kromhout H., Heederik D., Tieleman E. (2006) A probabilistic assessment of the impact of interventions on oncology nurses exposure to antineoplastic agents. *Occup Environ Med* 63 530-537.

Micoli G., Turci R., Arpellini M., Minoia C. (2001) Determination of 5-fluorouracil in environmental samples by solid phase extraction and high performance liquid chromatography with ultraviolet detector. *J.Chromatogr B Biomed Sci Appl* Jan 5 750 (1) 25-32

Minoia C., Turci R., Sottani C., Angeleri S., Micoli G., Fiorentino M.L. (1999) Monitoraggio ambientale e biologico nell'esposizione professionale a chemioterapici antitumorali. In: *Atti del Convegno Nazionale "Progressi nella valutazione del rischio espositivo a chemioterapici antitumorali"*, Pavia 1999.

Minoia C., Turci R., Sottani C., Schiavi A., Perbellini L., Angeleri S., Draicchio F., Apostoli P. (1998) Application of high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry in the environmental and biological monitoring of health care personnel occupationally exposed to cyclophosphamide and ifosfamide. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 12 1485-1493.

Morton W., Marjanovic D. (1984) Leukemia incidence by occupation in the Portland-Vancouver metropolitan area. *Am. J. Ind. Med.* 6 185-205.

Mutchinick O, Aizpuru E, Grether P.(1992) The human teratogenic effects of cyclophosphamide. *Aust Terat Abs.* 45: 329.

Ndaw S., Denis F., Marsan P., d'Almeida A., Robert A. (2010) Biological monitoring of occupational exposure to 5-fluorouracil: Urinary -fluoro- -alanine assay by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry in health care personnel. *Journal of Chromatography B* 878 2630–2634.

Ng L.M. (1970) Possible hazards of handling antineoplastic drugs. *Pediatrics* 46 648.

Nguyen T.V., Theiss J.C., Matney T.S. (1982) Exposure of pharmacy personnel to mutagenic antineoplastic drugs. *Cancer Res.* 42 4792-4796.

Nygren O., Lundgren C. (1997), Determination of platinum in workroom air and in blood and urine from nursing staff attending patients receiving cisplatin chemotherapy. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 70(3) 209-214.

Opiolka, S., Mölter, W., Goldschmidt, (1998), Umgang mit zytostatika. März: Krankenhaus Technik, 56-58.

Paladini .D, Vassallo M., D'Armiento MR., Cianciaruso .B, Martinelli P. (2004) Prenatal detection of multiple fetal anomalies following inadvertent exposure to cyclophosphamide in the first trimester of pregnancy. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 70 99-100.

Paskulin GA., Gazzola Zen PR., de Camargo Pinto LL., Rosa P, Graziadio C. (2005) Combined chemotherapy and teratogenicity. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 73 634-7.

Pedersen-Bjergaard J., Ersboll J, Sorensen HM., Keiding N., Larsen SO., Philip P., Larsen MS., Schultz H., Nissen NI. (1985) Risk of acute nonlymphocytic leukemia and preleukemia in patients treated with cyclophosphamide for non-Hodgkin's lymphomas. Comparison with results obtained in patients treated for Hodgkin's disease and ovarian carcinoma with other alkylating agents. *Ann Intern Med.* 103 195-200.

Pieri m., Castiglia I., Basilicata p., Sannolo n., Acampora a., Miraglia n. (2010) Biological Monitoring of Nurses Exposed to Doxorubicin and Epirubicin by a Validated Liquid Chromatography/Fluorescence Detection Method *Ann. Occup. Hyg.* Vol. 54 No. 4 pp. 368–376.

Pretty J.R., Connor T.H., Spasojevic I., Kurtz K.S., McLaurin J.L., Clayton B'Hymer C., Gayle Debord D., (2010) Sampling and mass spectrometric analytical methods for five antineoplastic drugs in the healthcare environment. *J Oncol Pharm Practice* 18(1) 23–36

Provvedimento 5 agosto 1999. Documento di linee-guida per la sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antitumorali in ambiente sanitario (G.U. n. 236 del 7.10.1999).

Pyy L., Sorsa M., Hakala E. (1988) Ambient monitoring of cyclophosphamide in manufacture and hospitals. *Am. Ind. Hyg. Assoc.* 49 314-317.

Radis CD., Kahl LE., Baker GL., Wasko .MC, Cash JM., Gallatin A., Stolzer BL., Agarwal AK., Medsger TA. Jr., Kwok CK. (1995) Effects of cyclophosphamide on the development of malignancy and on long-term survival of patients with rheumatoid arthritis. A 20-year followup study. *Arthritis Rheum.* 38 1120-7.

Ratner P.A., Spinelli J.J., Beking K., Lorenzi M., Chow Y., Teschke K., Le N., Gallagher R.P., Dimich-Ward H., (2010) Cancer incidence and adverse pregnancy outcome in registered nurses potentially exposed to antineoplastic drugs. *BMC Nursing* 9:15

Roberts S., Khammo N., McDonnell G., Sewell G.J. (2006) Studies on the decontamination of surfaces exposed to cytotoxic drugs in chemotherapy workstations *Oncol Pharm Practice* 12 95-104.

Rogers, B. (1987) Work practices of nurses who handle antineoplastic agents. *Am. Assoc. Occup. Health Nurs. J.* 35 24-31.

Rubino F.M., Floridia L., Pietropaolo A.M., Tavazzani M., Colombi A. (1999). "Measurement of Surface Contamination from some Antineoplastic Drugs by High-Performance Liquid Chromatography for Occupational Hygiene Investigation in Hospital Departments." *La Medicina del Lavoro*, 90, 572-83

Rubino F.M., Floridia L., Buratti M., Basilico S., Brambilla G., Colombi A. (2000) "Il monitoraggio ambientale della contaminazione da farmaci antineoplastici nelle farmacie ospedaliere per la tutela della salute del personale sanitario" in: *Atti del 63° Congresso Nazionale della Società*

Italiana di Medicina del Lavoro e Igiene Industriale, Sorrento, 8-11 Novembre 2000; *Folia Medica* 71(S1):81-86.

Rubino F.M., Floridia L., Tavazzani M., Basilico S., Colombi A. (2000) "Disseminazione e trasporto indoor della contaminazione da farmaci antineoplastici in ambito ospedaliero." in: *Progressi nella valutazione del rischio espositivo da chemioterapici antitumorali*. Atti del Convegno Nazionale "Progressi nella valutazione del rischio espositivo a chemioterapici antitumorali" Pavia, 14-15 Ottobre 1999 vol.5, 39-50.

Rubino FM, Verduci C, Buratti M, Fustinoni S, Campo L, Omodeo-Salè E, Giglio M, Iavicoli S, Brambilla G, Colombi A. 2006 Assay of urinary alpha-fluoro-beta-alanine by gas chromatography-mass spectrometry for the biological monitoring of occupational exposure to 5-fluorouracil in oncology nurses and pharmacy technicians. *Biomed Chromatogr.* 20(3):257-66.

Rudolph, R., Larson, D.L. (1987), Etiology and treatment of chemotherapeutic agent extravasation injuries: a review. *J.Clin. Oncol.* 5(7), 1116-1126.

Sabatini L., Barbieri A., Tosi M., Saverio Violante F. S. (2005) A new high-performance liquid chromatographic/electrospray ionization tandem mass spectrometric method for the simultaneous determination of cyclophosphamide, methotrexate and 5-fluorouracil as markers of surface contamination for occupational exposure monitoring. *J. Mass Spectrom.* 40 669–674.

Sankila R., Karjalainen S., Laara E., Pukkala E., Teppo L. (1990) Cancer risk among health care personnel in Finland 1971-1980. *Scand. J. Work Environ. Health* 16(4) 252-257.

Sannolo N., Miraglia N., Biglietto M., Acampora A., Malorni A. (1999) Determination of cyclophosphamide and ifosfamide in urine at trace levels by gas chromatography/tandem mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* 34 845-849.

Saurel-Cubizolles M., Job-Spira N., Estryn-Behar M. (1993) Ectopic pregnancy and occupational exposure to antineoplastic drugs. *Lancet* 341 1169-1171.

Schmaehl D., Thomas C., Auer R. (1977) *Iatrogenic carcinogenesis*. New York: Springer-Verlag.

Schmaehl D., Habs M. Carcinogenic action of low-dose cyclophosphamide given orally to Sprague-Dawley rats in a lifetime experiment. *Int J Cancer.* 1979; 23: 706-12.

Schmähl D., Kaldor J.M. (1986) Carcinogenicity of alkylating cytostatic drugs. IARC scientific publications n° 78. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.

Schulz H., Bigelow S., Dobish R., Chambers CR. 2005 Antineoplastic agent workplace contamination study: the Alberta Cancer Board Pharmacy perspective. *J. Oncol Pharm Practice* 11 101-109

Selevan S.G., Lindbohm M.L., Hornung R.W., Hemminki K. (1985) A study of occupational exposure to antineoplastic drugs and fetal loss in nurses. *N. Engl. J. Med.* 313(19) 1173-1178.

Sessink PJ., Anzion R.B, Van den Broek PH., Bos RP. (1992 a) Detection of contamination with antineoplastic agents in a hospital pharmacy department. *Pharm Weekbl Sci.* 14 16-22.

Sessink PJ., Boer KA., Scheefhals AP., Anzion RB., Bos RP. (1992) Occupational exposure to antineoplastic agents at several departments in a hospital. Environmental contamination and excretion of cyclophosphamide and ifosfamide in urine of exposed workers. *Int Arch Occup Environ. Health.* 64 105-112

Sessink PJ., Cerna M., Rossner P., Pastorkova A., Bavarova H., Frankova K., Anzion RB., Bos RP. (1994 d) Urinary cyclophosphamide excretion and chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes after occupational exposure to antineoplastic agents. *Mutat Res.* 309 193-9.

Sessink P.J., Connor H.T., Jorgenson J.A., Tyler T.J. (2010) Reduction in surface contamination with antineoplastic drugs in 22 hospital pharmacies in the US following implementation of a closed-system drug transfer device. *J Oncol Pharm Practice* 17(1) 39–48

Sessink PJ, de Roos JH, Pierik FH, Anzion RB, Bos RP. (1993) Occupational exposure of animal caretakers to cyclophosphamide. *J Occup Med.* 35 47-52.

Sessink PJ, Kroese ED, van Kranen HJ, Bos RP. (1995) Cancer risk assessment for health care workers occupationally exposed to cyclophosphamide. *Int Arch Occup Environ Health.* 67 317-23.

Sessink PJ, Van de Kerkhof MCA, Anzion RB, Noordhoek J, Bos RP.(1994a) Environmental contamination and assessment of exposure to antineoplastic agents by determination of cyclophosphamide in urine of exposed pharmacy technicians: is skin absorption an important exposure route? *Arch Environ Health.* 49 165-9.

Sessink P.J.M., Boer K.A., Scheefhals A.P.H., Anzion R.B.M., Bos R.P. (1992) Occupational exposure to antineoplastic agents at several departments in a hospital: environmental contamination and excretion of cyclophosphamide and ifosfamide in urine of exposed workers. *Int. Arch. Occup. Environ.* 64 105-112.

Sessink P.J.M., de Roos J.H.C., Pierik F.H., Anzion R.B.M., Bos R.P. (1993) Occupational exposure of animal caretakers to cyclophosphamide. *JOM* 35 47-52.

Sessink P.J.M., Friemèl N.S.S., Anzion R.B.M., Bos R.P. (1994) Biological and environmental monitoring of occupational exposure of pharmaceutical plant workers to methotrexate. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 65 401-403.

Sessink P.J.M., Timmersmans J.L., Anzion R.B.M., Bos R.P. (1994) Assessment of occupational exposure of pharmaceutical plant workers to 5-fluoruracil. Determination of α -Fluoro- β -alanine in urine. *JOM* 36 79-83.

Sessink P.J.M., Van de Kerkhof M.C.A., Anzion R.B.M., Noordhoek J., Bos R.P. (1994) Environmental contamination and assessment of exposure to antineoplastic agents by determination of cyclophosphamide in urine of exposed pharmacy technicians: is skin absorption an important exposure route? *Arch. Environ. Health* 49, 165-169.

Sessink P.J.M., Wittenhorst B.C., Anzion R.B., Bos R.P. (1997), Exposure of pharmacy technicians to antineoplastic agents: reevaluation after additional protective measures. *Arch. Environ. Health* 52(3) 240-244.

Skov T., Lynge E., Maarup, ., Olsen, J., Rorth, M., Winthereik, H. (1990), Risks for physicians handling antineoplastic drugs. *Lancet* 336(8728) 1446.

Skov T., Maarup B., Olsen J., Rort M., Winthereik, H., Lynge, E. (1992), Leukaemia and reproductive outcome among nurses handling antineoplastic drugs. *Br. J. Ind. Med.* 49(12) 855-861.

Slevin, M.L., Ang, L.M., Johnston, A., (1984), The efficiency of protective gloves used in the handling of cytostatic drugs. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 12, 151-153.

Sorsa M, Anderson D. Monitoring of occupational exposure to cytostatic anticancer agents. *Mutat Res.* 1996; 355 253-61.

Sorsa M., Pyy L., Salomaa S., Nylund L., Yager W. (1988) Biological and environmental monitoring of occupational exposure to cyclophosphamide in industry and hospitals. *Mutat. Res.* 204, 465-479.

Sotaniemi E.A., Sutinen S., Arranto A.J., Sotaniemi K.A., Lehtola J., Pelkonen R.O. (1983) Liver damage in nurses handling cytostatic agents. *Acta Med. Scand.* 214(3) 181-189.

Sottani C., Fiorentino M.L., Turci R., Angeleri, S., Minoia C. (1999) Determinazione di ciclofosfamide e taxolo in matrici ambientali; verifica dell'affidabilità del metodo. In: *Atti del Convegno Nazionale "Progressi nella valutazione del rischio espositivo a chemioterapici antiblastici"*, Pavia 1999.

Sottani C., Minoia C., D'Incalci M., Paganini M., Zucchetti M. (1998) High-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry procedure with automated solid phase extraction sample preparation for the quantitative determination of paclitaxel (Taxol®) in human plasma. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 12 251-255.

Sottani C. , Tranfo G., Faranda P., Minoia C. 2005 Highly sensitive high-performance liquid chromatography/selective reaction monitoring mass spectrometry method for the determination of cyclophosphamide and ifosfamide in urine of health care workers exposed to antineoplastic agents. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19: 2794–2800.

Sottani C., Turci R., Micoli G., Fiorentino M.L., Minoia C. (2000) Rapid and sensitive determination of paclitaxel (Taxol®) in environmental samples by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 14(10) 930-935.

Sottani C., Turci R., Perbellini L., Minoia C. (1998) Liquid-liquid extraction procedure for trace determination of cyclophosphamide in human urine by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 12 1063-1068.

Sottani C., Porro B., Comelli M., Imbriani M., Minoia C. 2010 An analysis to study trends in occupational exposure to antineoplastic drugs among health care workers. *Journal of Chromatography B*

Sottani C., Turci R., Schierl R., Gaggeri R., Barbieri A., Violante F.S., Minoia C. (2007) Simultaneous determination of gemcitabine, taxol, cyclophosphamide and ifosfamide in wipe samples by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry: protocol of validation and uncertainty of measurement. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 21 1289–1296

Stellman, J.M., Zoloth, S.R. (1986), Cancer chemotherapeutic agents as occupational hazard: a literature review. *Clin. Sc. Rev.* 2, 127-135.

Stoikes, M.E., Carlson, J.D., Farris, F.F., Walker, P.R. (1987), Permeability of latex and polyvinyl chloride gloves to fluorouracil and methotrexate. *Am. J. Hosp. Pharm.* 44, 1341-1346.

Stolar M.H., Power L.A., Viele C.S. (1983) Recommendations for handling cytotoxic drugs in hospitals. *Am.J. Hosp. Pharm.* 40 1163-1171.

Stücker I., Caillard J.F., Collin R., Gout M., Poyen D., Hemon D. (1988), Risque d'avortement spontané et préparation des chimiothérapies anticancéreuses chez les infirmières. *Arch. Mal. Prof.* 49 254-258.

Stücker I., Caillard J.F., Collin R., Gout M., Poyen D., Hemon D. (1990) Risk of spontaneous abortion among nurses handling antineoplastic drugs. *Scand. J. Work Environ. Health*, 16(2) 102-107.

Stücker I., Hirsch A., Doloy T., Bastoe-Sigeac I., Hemon D (1986) Urine mutagenicity, chromosomal abnormalities and sister chromatid exchanges in lymphocytes of nurses handling cytostatic drugs. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 57 195-205.

Stücker, I., Mandereau, L., Hemon, D. (1993) Relationship between birthweight and occupational exposure to cytostatic drugs during and before pregnancy. *Scand. J. Work Environ. Health* 19, 148-153

Sugiura S., Nakanishi H., Asano M., Hashida T., Tanimura M., Hama T., Nabeshima T. 2010 Multicenter study for environmental and biological monitoring of occupational exposure to cyclophosphamide in Japan. *J Oncol Pharm Practice* 17(1) 20–28.

Taskinen, H., Lindbohm, M.L., Hemminki, K. (1986) Spontaneous abortions among women working in the pharmaceutical industry. *Br. J. Ind. Med.* 43, 199-205.

Toledo TM, Harper RC, Moser RH. Fetal effects during cyclophosphamide and irradiation therapy *Ann Intern Med.* 1971 74 87-91.

Tortorici, M. (1980) Precautions followed by personnel involved with the preparation of parenteral anti-neoplastic medications. *Hosp. Pharm.* 15 293-301.

Touzin K., Bussieres JF., Langlois E., Lefebvre M. (2009) Evaluation of Surface Contamination in a Hospital Hematology-Oncology Pharmacy. *J. Oncol. PH Arm. Practice* 15: 53-61

Travis LB, Curtis RE, Glimelius B, Holowaty EJ, Van Leeuwen FE, Lynch CF, Hagenbeek A, Stovall M, Banks PM, Adami J, Gospodarowicz MK, Wacholder S, Inskip PD, Tucker MA, Boice JD Jr. Bladder and kidney cancer following cyclophosphamide therapy for non-Hodgkin's lymphoma. *J Natl Cancer Inst.* 1995 87 524-30.

Turci R., Minoia C., Perbellini L. (2000) Chemioterapici Antiblastici (Monitoraggio ambientale e biologico dell'esposizione professionale a xenobiotici. Vol 3).

Turci R., Fiorentino M.L., Sottani C., Minoia C. (2000) Determination of methotrexate in human urine at trace levels by solid phase extraction and high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 14 173-179.

Turci R., Micoli G., Minoia C. (2000) Determination of methotrexate in environmental samples by solid phase extraction and high performance liquid chromatography: ultraviolet or tandem mass spectrometry detection? *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 14(8) 685-691.

U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration (1986) Work practice guidelines for personnel dealing with cytotoxic (antineoplastic) drugs. OSHA Publication 8-1.1.

U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration (1995) Controlling Occupational Exposure to Hazardous Drugs. OSHA Publication 5-3.

U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration (1984) Respiratory Protection Standard. 29 CFR 1910.134.

U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration (1995) Controlling Occupational Exposure to Hazardous Drugs. OSHA Publication 5-3.

Vainio.H. (1991) Carcinogenic properties of pharmaceutical agents evaluated in the IARC Monographs programme M.Marselosand H.Vainio 1991.

Valanis B., Driscoll K., McNeil V. (1990) Comparison of antineoplastic drug handling policies of hospitals with OSHA guidelines. Am.J.Public Health 80 480-481.

Valanis B., McNeil V., Driscoll K. (1991) Staff compliance with their facility's antineoplastic drug handling policy. Oncol. Nurs Forum. 18 571-576.

Valanis B., Vollmer W., Labuhn K., Glass A., Corelle C. (1992) Antineoplastic drug handling protection after OSHA guidelines. Comparison by profession, handling activity, and work site. J. Occup. Med. 34, 149-155.

Valanis, B.G., Vollmer, W.M., Labuhn, K.T., Glass, A.G. (1993), Association of antineoplastic drug handling with acute adverse effects in pharmacy personnel. Am. J. Hosp. Pharm. 50, 455-462.

Van Leeuwen, F.E., Somers, R., Taal, B.G., van Heerde, P., Coster, B., Dozeman, T., Huisman, S.J., Hart, A.A. (1989), Increased risk of lung cancer, non-Hodgkin's lymphoma, and leukemia following Hodgkin's disease. J.Clin. Oncol. 7, 1046-1058.

Vaux KK, Kahole NC, Jones KL.(2003) Cyclophosphamide, methotrexate, and cytarabine embryopathy: is apoptosis the common pathway? Birth Defects Res A Clin Mol Teratol. 2003 67 403-8.

Yoshida J., Koda S., Nishida S.,Yoshida T., Miyajima K., Kumagai S. (2011) Association between occupational exposure levels of antineoplastic drugs and work environment in five hospitals in Japan. J Oncol Pharm Practice 17(1) 29–38.

Yoshida J., Tei G., Mochizuki C., Masu Y., Koda S., Kumagai S. (2008) Use of a Closed System Device to Reduce Occupational Contamination and Exposure to Antineoplastic Drugs in the Hospital Work Environment. *Ann. Occup. Hyg.* 53(2) 153–160

YOSHIDA J., GENSHIN T., MOCHIZUKI C., MASU Y., KODA S., KUMAGAI S. 2009 Use of a Closed System Device to Reduce Occupational Contamination and Exposure to Antineoplastic Drugs in the Hospital Work Environment. *Ann. Occup. Hyg.* 53 (2) 153–160.

Zemlickis D, Lishner M, Erlich R, Koren G. (1993) Teratogenicity and carcinogenicity in a twin exposed in utero to cyclophosphamide. *Teratog Carcinog Mutagen.* 13 139-43.

Zimmerman, P.F., Larsen R.K., Barkley E.W., Gallelli J.F. (1981) Recommendations for the safe handling of injectable antineoplastic drug products. *Am. J. Hosp. Pharm.* 38 1693-1695.

ALLEGATO TECNICO

A.1 Determinazione analitica dei glucoside analoghi 5 Fluorouracile, Gemcitabina, Citarabina

L'identificazione e separazione di 5FU, GCA, CYA è stata eseguita mediante cromatografia ad alta risoluzione con rivelazione spettrofotometrica (HPLC-UV) e quantificazione attraverso curva di calibrazione con standard interno (5BromoUracile 5BU).

A.1.1. Materiali e Reagenti:

- Colonna cromatografica Phenomenex Gemini 3 μ m C18 110A
- Acqua MilliQ ultrapure
- AcNH₄ (Acetato d'Ammonio)
- 5FU, GCA, CYA, 5BU (BromoUracile IS) in polvere

A.1.2. Procedimento analitico:

Preparazione di una soluzione madre come miscela di 5FU, GCA, CYA: 100 μ g/ml

Preparare soluzione madre 5BU: 100 μ g/ml

Preparare soluzioni standard a diversa concentrazione (10,0,5,0,1,0, 0,5, 0,25, 0,1, 0,05, 0,025 μ g/ml di miscela 5FU, GCA, CYA)

Preparare calibratori: a 900 μ l di ciascuno standard 100 μ l di 5BU (I.S. 100 μ g/ml)

Analisi dei calibratori in HPLC/UV e successiva costruzione di retta di taratura con 8 punti curva.

A1.3. Condizioni cromatografiche:

Colonna cromatografica: Phenomenex 50 x 3.00 mm

Fase mobile: Soluzione 100% acquoso, tamponato per Acetato d'Ammonio (AcNH₄ pH 6.9)

λ di rivelazione: 272 nm

Flusso: 0,8 ml/min.

Vol. Iniez. : 20 μ l

t_{r5FU} : 1.5 min

t_{rCYA} : 2.5 min

t_{rGCA} : 6.9 min

t_{r5BU} : 4.1 min

A.1.4. Dati sperimentali

Tab. A.1.		RETTE DI CALIBRAZIONE 5-FLUOROURACILE (5FU)					
		dati di INPUT		(µg/mL)*		CQ** del metodo	
dati	Cal (µg/mL)	SN ANA (un.arb)	SN IS (un.arb.)	Cal ricalc.	±DS	accuratezza (%)	precisione (%)
1	0,0	0	694385	-0,01	0,03	-	-
2	0,0	0	692106	-0,01	0,03	-	-
3	0,025	1902	679151	0,01	0,03	-40,10%	204,6
4	0,025	2077	681873	0,02	0,03	-32,38%	181,2
5	0,05	4346	708657	0,04	0,03	-17,63%	74,4
6	0,05	4544	713431	0,04	0,03	-13,91%	71,1
7	0,1	8555	709444	0,09	0,03	-12,21%	34,9
8	0,1	8495	715621	0,09	0,03	-13,69%	35,5
9	0,5	45821	697249	0,51	0,03	1,96%	6,0
10	0,5	46601	704844	0,51	0,03	2,59%	5,9
11	1,0	87607	670994	1,02	0,03	1,98%	3,0
12	1,0	88305	676800	1,02	0,03	1,92%	3,0
13	5,0	457183	718547	5,00	0,03	-0,06%	0,6
14	5,0	457941	714166	5,04	0,03	0,73%	0,6
15	10,0	880893	690399	10,03	0,03	0,28%	0,3
16	10,0	872755	689375	9,95	0,03	-0,50%	0,3

segnale ANA (un.arb.)

concentrazione ANA (ug/ml)

Intercetta	0,001
Errore Intercetta	0,001
Pendenza	0,127
Errore pendenza	0,000
R ²	1,0000
LoD (µg/L)	0,06

*ricalcolo della concentrazione dell'analita dalla retta di calibrazione**CQ: controllo qualità

SN = Segnale, ANA = Analita, IS = Standard Interno, un. arb. = Unità arbitrarie, Cal = Calibratore

Tab A.2.	RETTE DI CALIBRAZIONE GEMCITABINA (GCA)						
	dati di INPUT			(µg/mL)*		CQ** del metodo	
dati	Cal (µg/mL)	SN ANA (un.arb)	SN IS (un.arb.)	Cal ricalc.	±DS	accuratezza (%)	precisione (%)
1	0,0	0	694385	0,00	0,02	-	-
2	0,0	0	692106	0,00	0,02	-	-
3	0,025	956	679151	0,03	0,02	1,48%	80,3
4	0,025	814	681873	0,02	0,02	-11,00%	91,6
5	0,05	2261	708657	0,05	0,02	2,80%	39,6
6	0,05	2203	713431	0,05	0,02	-0,20%	40,8
7	0,1	4422	709444	0,10	0,02	-4,19%	21,3
8	0,1	4398	715621	0,09	0,02	-5,46%	21,6
9	0,5	23409	697249	0,49	0,02	-1,01%	4,1
10	0,5	24002	704844	0,50	0,02	0,39%	4,1
11	1,0	46276	670994	1,01	0,02	1,16%	2,0
12	1,0	46636	676800	1,01	0,02	1,07%	2,0
13	5,0	243891	718547	4,96	0,02	-0,80%	0,4
14	5,0	244762	714166	5,01	0,02	0,16%	0,4
15	10,0	473897	690399	10,03	0,02	0,25%	0,2
16	10,0	471487	689375	9,99	0,02	-0,11%	0,2

segnale ANA (un.arb.)

concentrazione ANA (ug/L)

Intercetta	0,000
Errore Intercetta	0,000
Pendenza	0,069
Errore pendenza	0,000
R ²	1,0000
LoD (µg/L)	0,04

Tab A.3		RETTE DI CALIBRAZIONE CITARABINA (CYA)					
		dati di INPUT		(µg/mL)		CQ del metodo	
dati	Cal (µg/mL)	SN ANA (un.arb)	SN IS (un.arb.)	Cal ricalc.	±DS	accuratezza (%)	precisione (%)
1	0,0	0	694385	0,00	0,02	-	-
2	0,025	1541	679151	0,02	0,02	-13,95%	99,8
3	0,025	1515	681873	0,02	0,02	-15,85%	102,0
4	0,05	3157	708657	0,04	0,02	-13,02%	49,4
5	0,05	3080	713431	0,04	0,02	-15,79%	51,0
6	0,1	6540	709444	0,09	0,02	-8,61%	23,5
7	0,1	6532	715621	0,09	0,02	-9,53%	23,8
8	0,5	34061	697249	0,49	0,02	-2,02%	4,4
9	0,5	34219	704844	0,49	0,02	-2,63%	4,4
10	1,0	68031	670994	1,02	0,02	1,81%	2,1
11	1,0	69645	676800	1,03	0,02	3,34%	2,0
12	5,0	358507	718547	5,02	0,02	0,31%	0,4
13	5,0	356902	714166	5,02	0,02	0,47%	0,4
14	10,0	685606	690399	9,98	0,02	-0,16%	0,2
15	10,0	685253	689375	9,99	0,02	-0,07%	0,2

segnale ANA (un.arb.)

concentrazione ANA (µg/L)

Intercetta	0,000
Errore Intercetta	0,000
Pendenza	0,099
Errore pendenza	0,000
R ²	1,0000
LoD (µg/L)	0,04

A.2 Determinazione analitica di Epirubicina

L'identificazione e separazione dell'Epirubicina, è stata effettuata mediante cromatografia ad alta risoluzione con rivelazione spettrofotometrica (HPLC-UV) e quantificazione attraverso curva di calibrazione con standard interno (Idarubicina).

A.2.1. Materiali e Reagenti

- Colonna cromatografica Restek
- Acqua MilliQ ultrapure
- Acetonitrile (CH₃CN) R-Cromosolv
- Tetraidrofurano (THF)
- Epirubicina (EPI) cloridrato Pfizer farmorubicina 10 mg/5ml
- Idarubicina (IDA) hydrochloride Sigma Aldrich cod 058k1467

A.2.2. Procedimento analitico

Preparare soluzione madre EPI: 100 µg/ml

Preparare soluzione madre IDA: 100 µg/ml

Preparare soluzioni standard a diversa concentrazione (1, 0,5, 0,25, 0,1, 0,05 µg/ml di EPI)

Preparare calibratori: a 900 µl di ciascuno standard 100 µl di IDA (I.S. 100 µg/ml)

Analisi dei calibratori in HPLC/UV e successiva costruzione di retta di taratura con 6 punti curva.

A.2.3. Condizioni cromatografiche

Colonna cromatografica: Restek

Fase mobile: H₂O/ CH₃CN 85:15 + THF 3.6%

λ di rivelazione: 254 nm

Flusso: 1ml/min.

Vol. Iniez. : 20 µl

t_{REPI}: 3.1 min

t_{rida}: 7.1 min

A.2.4. Dati sperimentali

Tab A.4	RETTE DI CALIBRAZIONE EPIRUBICINA (EPI)						
	dati di INPUT			(µg/mL)		CQ del metodo	
dati	Cal (µg/mL)	SN ANA (un.arb)	SN IS (un.arb.)	Cal ricalc.	±DS	accuratezza (%)	precisione (%)
1	0,0	0	53447	0,01	0,02	-	-
2	0,0	0	51228	0,01	0,02	-	-
3	0,0500	1654	50410	0,06	0,02	13,96%	33,0
4	0,0500	1677	49874	0,06	0,02	16,46%	32,2
5	0,100	3097	49367	0,10	0,02	2,85%	18,4
6	0,100	3126	49814	0,10	0,02	2,88%	18,4
7	0,25	7917	50674	0,25	0,02	-1,52%	7,9
8	0,25	7865	51906	0,24	0,02	-4,41%	8,6
9	0,5	16682	55060	0,47	0,02	-5,77%	3,7
10	0,5	17005	54486	0,49	0,02	-2,97%	3,8
11	1,0	32923	50402	1,01	0,02	0,81%	1,9
12	1,0	32865	49912	1,02	0,02	1,61%	1,9

Intercetta	-0,004
Errore Intercetta	0,003
Pendenza	0,652
Errore pendenza	0,007
R ²	0,9994
LoD (µg/mL)	0,04

A.3 Determinazione analitica del Metotrexato

L' identificazione, separazione del Metotrexato è effettuata mediante cromatografia ad alta risoluzione con rilevazione spettrofotometrica (HPLC-UV) e la quantificazione attraverso curva di calibrazione con standard interno (AMP Amminopterin).

A.3.1. Materiali e Reagenti

- Colonna cromatografica Phenomenex GEMINI 3 μ m 50x3.0 mm
- Acqua MilliQ ultrapure
- Acetonitrile (CH₃CN) R-Cromosolv
- AcNH₄ (Acetato d'Ammonio)
- Metotrexato (MTX) 25mg/ml
- AMP (IS) Amminopterin

A.3.2. Procedimento analitico

Preparare soluzione madre MTX: 250 μ g/ml

Preparare soluzione madre AMP: 100 μ g/ml

Preparare soluzioni standard a diversa concentrazione (1, 0.45, 0.25, 0.125, 0.0625 μ g/ml di MTX)

Preparare calibratori: a 900 μ l di ciascuno standard 10 μ l di AMP (I.S. 100 μ g/ml)

Analisi dei calibratori in hplc/uv e successiva costruzione di retta di taratura con 6 punti curva.

A.3.3. Condizioni cromatografiche

Colonna cromatografica: Phenomenex

Fase mobile: H₂O/ CH₃CN 96:4

λ di rivelazione: 310 nm

Flusso: 1ml/min.

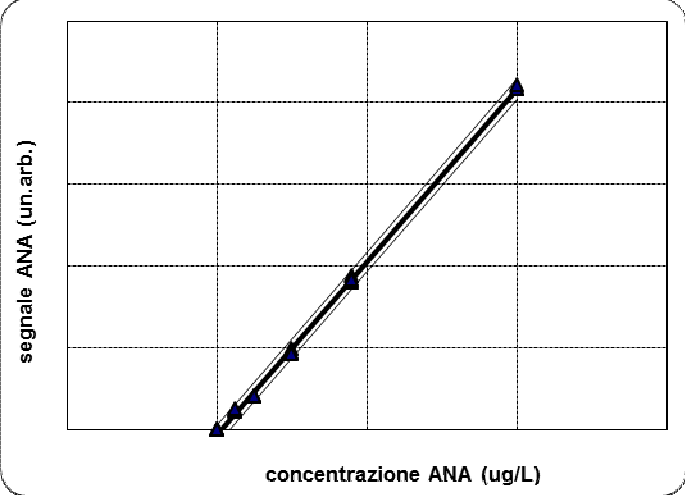
Vol. Iniez. : 20 μ l

t_{rMTX}: 7,7 min

t_{rAMP}: 2,6 min

A.3.4. Dati sperimentali

Tab A.5	RETTA DI CALIBRAZIONE METOTREXATO (MTX)						
	dati di INPUT			(µg/mL)		CQ del metodo	
dati	Cal (µg/mL)	SN ANA (un.arb)	SN IS (un.arb.)	Cal ricalc.	±DS	accuratezza (%)	precisione (%)
1	0,0	0	33812	0,02	0,02		
2	0,0625	3775	33721	0,07	0,02	9,85%	25,7
3	0,0625	3735	35963	0,06	0,02	3,73%	27,4
4	0,0625	4225	35449	0,07	0,02	15,33%	24,3
5	0,1250	7908	40003	0,11	0,02	-12,63%	17,0
6	0,1250	8128	40025	0,11	0,02	-10,59%	16,5
7	0,1250	8071	40559	0,11	0,02	-12,13%	16,9
8	0,2500	17430	35253	0,25	0,02	-0,17%	7,2
9	0,2500	16352	35239	0,24	0,02	-5,92%	8,5
10	0,2500	16217	35308	0,23	0,02	-6,81%	8,7
11	0,4500	33737	36090	0,46	0,02	1,75%	4,0
12	0,4500	33208	36804	0,44	0,02	-1,66%	3,9
13	0,4500	34476	37773	0,45	0,02	-0,57%	4,0
14	1,0000	66192	31847	1,00	0,02	-0,11%	1,8
15	1,0000	67439	32342	1,00	0,02	0,21%	1,8



concentrazione ANA (ug/L)

Intercetta	-0,033
Errore Intercetta	0,009
Pendenza	2,114
Errore pendenza	0,018
R ²	0,9994
LoD (µg/mL)	0,04

A.4 Determinazione analitica di Dacarbazina (DAC)

L' identificazione, separazione della Dacarbazina è effettuata con cromatografia ad alta risoluzione con rilevazione spettrofotometrica (HPLC-UV) e quantificazione mediante curva di calibrazione.

A.4.1. Materiali e Reagenti

- Colonna cromatografica Phenomenex GEMINI (C18)
- Acqua MilliQ ultrapure
- Metanolo (CH₃OH) R-Cromosolv
- Acido Acetico Glaciale (CH₃COOH)
- Dacarbazina(DAC) 100µg/mL

A.4.2. Procedimento analitico

Preparare soluzione madre DAC: 100 µg/mL

Preparare soluzioni standard a diversa concentrazione (1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.3125 µg/mL di DAC)

Analisi dei calibratori in HPLC/UV e successiva costruzione di retta di taratura con 6 punti curva.

A.4.3. Condizioni cromatografiche

Colonna cromatografica: Phenomenex

Fase mobile: H₂O/ CH₃OH 90:10 (Fase acquosa allo 0.005% di CH₃COOH glaciale, 5 µl)

λ di rivelazione: 316 nm

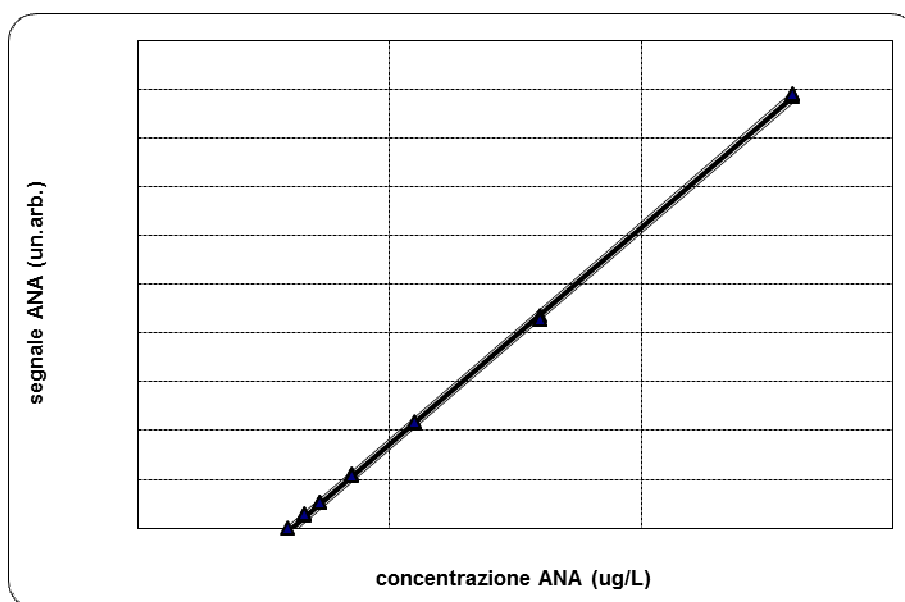
Flusso: 1ml/min.

Vol. Iniez. : 20 µL

t_r: 1,061 min

A.4.4 Dati sperimentali

Tab A.6	RETTE DI CALIBRAZIONE DACARBAZINA DAC						
	dati di INPUT			calibrazione (µg/L)		CQ del metodo	
dati	Cal (µg/mL)	SN ANA (un.arb)	SN IS (un.arb.)	Cal ricalc.	±DS	accuratezza (%)	precisione (%)
0	0,0		=	0,01			
1	0,0331	2757	1	0,04	0,01	14,33%	20,9
2	0,0331	2636	1	0,04	0,01	10,23%	21,7
3	0,0331	2671	1	0,04	0,01	11,41%	21,5
4	0,0625	5269	1	0,07	0,01	5,75%	12,0
5	0,0625	5182	1	0,07	0,01	4,19%	12,2
6	0,0625	5205	1	0,07	0,01	4,60%	12,1
7	0,125	10841	1	0,13	0,01	2,96%	6,2
8	0,125	10904	1	0,13	0,01	3,53%	6,1
9	0,125	10583	1	0,13	0,01	0,64%	6,3
10	0,250	21418	1	0,25	0,01	-0,98%	3,2
11	0,250	21545	1	0,25	0,01	-0,41%	3,2
12	0,250	21750	1	0,25	0,01	0,51%	3,2
13	0,5	42681	1	0,49	0,01	-2,71%	1,5
14	0,5	43519	1	0,50	0,01	-0,83%	1,6
15	0,5	42854	1	0,49	0,01	-2,32%	1,6
16	1,0	88900	1	1,01	0,01	0,57%	0,8
17	1,0	88419	1	1,00	0,01	0,03%	0,8
18	1,0	89052	1	1,01	0,01	0,74%	0,8



R^2	0,9999
LoD (µg/mL)	0,04

APPENDICE

Articoli in cui sono citato:

➤ **Antineoplastic Profile Assessment for the Evaluation of Occupational Exposure in Hospital Personnel involved in handling cytotoxic agents**

Cristina Sottani,* **Lorenzo Fugnoli***, Jessica Businaro**, Paolo Poma*, Anna Ronchi*
Giuseppina Micoli* e Claudio Minoia*.

(*) Laboratorio di Misure Ambientali e Tossicologiche, Fondazione S. Maugeri, Istituto Scientifico di Pavia

(**) Scuola di specializzazione in Medicina del Lavoro, Università degli Studi di Pavia, Fondazione S. Maugeri, Istituto Scientifico di Pavia

➤ **Dermal exposure to the fungicide tebuconazole during application in vineyards**

Claudio Colosio ¹, Federico Rubino², **Lorenzo Fugnoli²**, Stephan Mandic-Rajcevic²,
Giorgio Vianello ², Silvia Fustinoni ³, Elisa Polledri ³, Rosa Mercadante³, Angelo
Moretto⁴

¹University of Milan and ICRH, San Paolo, Italy, ²University of Milan and ICRH, Italy,³
University of Milan and Policlinico, Italy,⁴University of Milan and ICPS, Italy

➤ **Serum levels of polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorinated pesticides (OCPs) among individuals of general population in three Italian geographic regions**

MREMA EZRA, JONATHAN RUBINO FEDERICO MARIA, FUGNOLI LORENZO, PITTON
MARCO, MANDIC-RAJCEVIC STEFAN, COLOSIO, CLAUDIO.

Ringraziamenti:

- Prof. Giovanni Costa: grazie per la disponibilità e la comprensione nell'avermi concesso tutto il tempo necessario per portare a termine il lavoro.
- Prof. Claudio Colosio: per essersi fatto carico del mio dottorato in itinere e per avermi permesso di portare a termine il lavoro.
- Prof. Antonio Colombi: per avermi permesso di accedere ad una disciplina molto interessante come la medicina del lavoro anche se non propria del mio background culturale.
- Prof. Enzo Santagnello: per avermi supportato sempre e comunque nonostante le avversità incontrate durante questi tre anni più uno.
- Dott. Federico Maria Rubino: nonostante i dissidi avuti in corso d'opera, è il vero ideatore insieme al Prof. Colombi dell'idea originale che sottende a questo lavoro di tesi.
- Dott. Claudio Minoia: per avermi consentito di proseguire gli studi di dottorato anche durante la mia attività di laboratorio presso la Fondazione S. Maugeri e avermi dato libero accesso ad un enorme quantità di dati e informazioni utili per il mio lavoro.
- Dot.ssa Cristina Sottani: per il prezioso confronto professionale e aiuto nell'approfondire il bagaglio culturale sulle tecniche analitiche cruciali per l'analisi dei chemioterapici.

- Dott.ssa Roberta Turci: la lista delle cose in cui sei stata cruciale è lunga per cui eviterò di scriverla, comunque grazie.
- Dott. Marco Pitton- Dott.ssa Daniela Difabio: per il prezioso training trasmessomi sulla strumentazione analitica impiegata per le analisi effettuate e per l'esperienza sul campo che abbiamo condiviso nelle strutture ospedaliere investigate.
- Dott. Giorgio Vianello: per il prezioso supporto in questi ultimi due anni.
- Dott. Mrema Ezra, Dott.Ramin Tabibi, Dott. Stefan Mandic-Rajcevic: grazie anche a voi cari colleghi per il vostro sostegno e per la vostra amicizia.